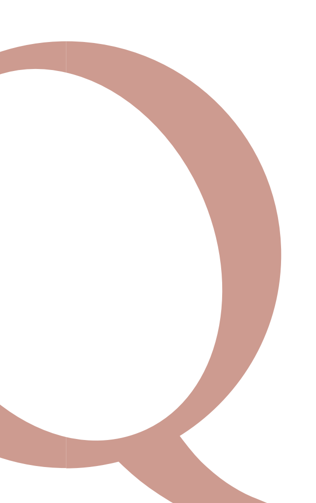


Coordination de Francis Macary
Préface de Stéphane Le Foll



Pesticides en viticulture

Usages, impacts et transition agroécologique





Pesticides en viticulture

Usages, impacts et transition agroécologique

Coordination de Francis Macary

Préface de Stéphane Le Foll

Collection *Savoir-faire*

Les agricultures urbaines en France. Comprendre les dynamiques, accompagner les acteurs
C. Aubry, G. Giacchè, F. Maxime, C. Toussaint Soulard, coord., 2022, 224 p.

Life Cycle Assessment of agri-food systems.
An operational guide dedicated to developing and emerging economies
C. Basset-Mens, A. Avadí, C. Bessou, I. Acosta-Alba, Y. Biard, S. Payen, coord., 2022, 210 p.

Spillways on River Levees
G. Degoutte, R. Tourment, coord., 2021, 176 p.

Quelles alternatives en expérimentation animale ? Pratiques et éthique
F. Marano, P. Hubert, L. Geoffroy, H. Juin, coord., 2020, 186 p.

Génétique des animaux d'élevage. Diversité et adaptation dans un monde changeant
E. Verrier, D. Milan, C. Roger-Gaillard, coord., 2020, 288 p.

Qualité du café. L'impact du traitement post-récolte
M. Barel, 2020, 112 p.

Biocontrôle. Éléments pour une protection agroécologique des cultures
X. Fauvergue, A. Rusch, M. Barret, M. Bardin, E. Jacquin-Joly, T. Malausa, C. Lannou, coord., 2020, 376 p.

Protection agroécologique des cultures
J.-P. Deguine, C. Gloanec, P. Laurent, A. Ratnadass, J.-N. Aubertot, coord., 2016, 288 p.

Ouvrage sur la viticulture aux éditions Quæ

De l'œnologie à la viticulture
A. Carbonneau, J.-L. Escudier, P. Mauguin (préface)
2e édition, 2022, 304 p.

Pour citer cet ouvrage

Macary F., coord., 2023. *Pesticides en viticulture. Usages, impacts et transition agroécologique*, éditions Quæ, Versailles, 232 p., DOI: 10.35690/978-2-7592-3601-5

Il a bénéficié du soutien financier de INRAE.

Éditions Quæ
RD 10, 78026 Versailles Cedex

www.quae.com / www.quae-open.com

ISBN : 978-2-7592-3600-8
ISBN (PDF) : 978-2-7592-3601-5
ISBN (ePub) : 978-2-7592-3602-2
ISSN : 1952-1251

Sommaire

Préface
La vigne et l'agroécologie

Stéphane Le Foll

La vigne est une vieille compagne de l'humanité ; elle est au cœur d'une histoire millénaire et, avec le vin, c'est une part charnelle de la culture française et européenne. Cette histoire, de l'Antiquité à nos jours, fait de la vigne et de la viticulture un défi permanent.

La viticulture est confrontée comme toutes les activités productrices d'aujourd'hui aux contraintes du réchauffement climatique, aux défis environnementaux, et aussi – c'est en partie sa spécificité –, aux questions de santé publique avec le vin.

Ce patrimoine est fragile et a toujours nécessité l'attention des hommes et leur travail pour la protéger et la cultiver. La vigne a évolué, comme tous les autres végétaux anthropisés, tant génétiquement que dans ses méthodes culturales avec, encore plus que dans toute autre plante, un lien entre rendement et qualité. La vigne et le raisin sont convoités par les hommes mais subissent également l'assaut des maladies et des attaques parasitaires climatiques, or la plante est fragile, surtout face aux attaques fongiques. Elle a été à ce titre une consommatrice importante de pesticides, dont les herbicides parce qu'il ne fallait pas d'herbe pour avoir une vigne propre, ce qui n'est plus vrai… et tant mieux. Je me souviens au pic Saint-Loup d'un des premiers Groupements d'intérêt économique et environnemental (GIEE) viticoles : « Les Enherbeurs ». C'était un joli message et la marque d'un vrai changement d'approche.

Tout ce qui a permis de protéger les plants, avec la facilité qu'a offerte l'agrochimie pendant toute la seconde partie du XXe siècle et au début du XXIe siècle, a conduit la filière à une surconsommation de produits phytosanitaires, avant qu'elle n'opère un changement qu'il faut encourager pour baisser les Indices de fréquence de traitement (IFT) partout sur notre territoire et développer toutes les techniques nouvelles alternatives et durables.

Il faut imaginer un nouveau paradigme de production. C'est à ce titre que cet ouvrage pluridisciplinaire coordonné par Francis Macary, en collaboration avec l'Université de Bordeaux, INRAE, le CNRS et l'Ifremer, est une contribution scientifique de première importance, enrichie par des témoignages d'acteurs économiques viticoles et d'experts environnementaux.

Cet ouvrage en sept chapitres expose les bases analytiques des menaces pathogènes de la vigne, le rôle et la présence du cuivre, celle des pesticides dans les écosystèmes, mais aussi les réponses des organismes aquatiques, les phénomènes de bio-accumulation dans les biofilms et l'évaluation de la toxicité des pesticides sur les milieux marins. En tant qu'ancien ministre et promoteur convaincu de l'agroécologie, je trouve que le plus important est le chapitre sur les nouvelles perspectives à mettre en œuvre pour l'avenir. Cet ouvrage prône une approche globale, agroécologique, avec des scénarios prospectifs construits dans le cadre du projet PhytoCOTE. Chaque chapitre porte aussi le témoignage précieux d'un viticulteur et lie ainsi le projet scientifique à la réalité vécue du terrain.

Pour toutes ces raisons, je considère cet ouvrage comme une référence et un pas de plus dans le monde d'aujourd'hui vers une acceptation du lien nouveau à faire, entre les défis économiques, sociaux et culturels d'une filière de production, et l'enjeu environnemental. À tous les spécialistes, chercheurs, viticulteurs et aussi simplement aux lecteurs attentifs aux enjeux du moment, je souhaite une très bonne lecture pour acquérir de la connaissance, source de tous les progrès.

Avant-propos

Christian Huyghe

Cet ouvrage, que vous allez avoir le plaisir de déguster comme un grand cru, est le fruit de différents projets de recherche, de la réflexion et de la conviction des auteurs qu'il faut modifier profondément la protection du vignoble, et que la transition agroécologique, étayée des connaissances scientifiques les plus récentes, le permet.

La viticulture est un fleuron de l'agriculture française et de son économie. Emblématique par son chiffre d'affaires et les excédents de la balance commerciale, par la qualité et la réputation mondiale des vins et spiritueux issus des vignobles français, elle pèse aussi par la consommation de produits phytopharmaceutiques, avec la particularité d'une prédominance des fongicides utilisés pour la protection contre le mildiou et l'oïdium.

C'est aussi le secteur où la construction et le déploiement de fiches-actions CEPP (Certificats d'économie de produits phytopharmaceutiques) ont été les plus rapides. Ceci traduit le fait que de nombreux leviers existent et sont déployés sur le terrain, même si, pour certains, comme les nouveaux cépages résistants au mildiou et à l'oïdium, la transition peut être longue.

La transition impose aussi de repenser le vignoble, notamment en augmentant la diversité fonctionnelle pour maximiser les régulations biologiques.

La grande diversité française des vignobles et des conditions viticoles est une richesse économique et culturelle avec plus de 300 AOC et signes de qualité. Elle est aussi une chance pour la transition agroécologique qui impose de prendre en compte les conditions locales. Ceci veut dire que la protection des vignobles ne sera pas assurée partout avec les mêmes combinaisons de leviers. Aubaine pour la recherche, cette dépendance aux conditions locales est un défi pour l'accompagnement des viticulteurs.

La vigne possède des particularités majeures. Parmi elles, citons comment elle façonne des paysages emblématiques. Elle est à ce titre un objet de prédilection pour les démarches participatives dans les territoires, comme dans le territoire d'innovation VitiRev, en Nouvelle-Aquitaine. Autre particularité majeure de la vigne, le vin bien sûr, objet de dégustation, mais aussi objet d'étude pour comprendre les déterminants du consentement à payer du consommateur. À côté du plaisir organoleptique qui justifie tout le travail à la vigne et au chai,

le consommateur exprime une demande de naturalité, générant un marché en bio très dynamique, ainsi qu'une attente croissante d'absence de résidus de pesticides et d'une réduction forte de leur usage.

On peut donc conclure qu'en viticulture, la transition agroécologique, avec tous ses leviers biotechniques et organisationnels, est une voie royale, déjà empruntée pour répondre aux marchés nationaux et internationaux. De plus, elle permettra de s'adapter et d'atténuer les effets du changement climatique, qui constitue le grand défi de demain.



Vignoble en agroécologie au Domaine Émile Grelier, en Bordelais (© Francis Macary).

Remerciements

Francis Macary

Je tiens tout d'abord à remercier bien sincèrement les trente auteurs qui ont volontiers accepté de m'accompagner dans cette aventure de quelques mois. Leur contribution figure en tête de chaque chapitre et leurs coordonnées en fin d'ouvrage. J'apporte un complément de gratification à chaque auteur correspondant de chapitre, chargé de relayer auprès des différents rédacteurs les informations nécessaires à l'écriture de ce livre. Je pense que la qualité finale de l'ouvrage justifie amplement ces moments d'efforts supplémentaires aux tâches quotidiennes.

Nous sommes particulièrement honorés de l'intérêt que nous a manifesté Stéphane Le Foll en rédigeant la préface, eu égard à son action majeure dans le lancement du projet national agroécologique lorsqu'il était ministre en charge de l'agriculture (durant cinq années). De même, nous sommes très reconnaissants à Christian Huyghe, directeur général adjoint Agriculture d'INRAE, d'avoir accueilli avec bienveillance cet ouvrage collectif et l'effort des chercheurs impliqués pour le rédiger dans un format offrant un intérêt pour les lecteurs ciblés.

Nous espérons qu'ils puissent trouver dans ce livre des réponses aux multiples questions posées par la problématique des pesticides en agriculture, plus particulièrement en viticulture : gestionnaires de services agricoles et environnementaux, acteurs socioprofessionnels sur le terrain, professeurs et étudiants de l'enseignement secondaire et supérieur en agriculture et environnement.

Nous avons choisi d'intégrer dans chaque chapitre le témoignage d'un professionnel, voire d'un expert scientifique, afin d'établir la relation entre ces connaissances présentées dans l'ouvrage et les attentes des professionnels sur le terrain. Ainsi, je remercie vivement pour leurs apports, suivant la chronologie des chapitres : *Laurent Mauvillain*, viticulteur en mode biologique à Braud-et-Saint-Louis (Gironde) ; *Pascal Doquet*, président de l'association des Champagnes biologiques ; *Guéric Gabriel*, directeur du service environnemental de la Communauté des communes de l'Estuaire de la Gironde ; *Adeline Thévand*, gestionnaire au sein du Syndicat intercommunal du Bassin d'Arcachon ; *Fabrizzio Botta*, expert en écotoxicologie au sein de l'ANSES ; *Xavier Bourrain*, gestionnaire au sein de l'Agence de l'eau Loire Bretagne ; *Benoît Vinet*, viticulteur bio et l'un des pionniers de l'agroécologie viticole en Gironde. Nous les en remercions très vivement.

Nous sommes également pleinement reconnaissants aux relecteurs externes de chacun des sept chapitres, experts dans ces domaines, qui ont fait un gros travail

de correction, suggestions, d'échanges, afin de pouvoir parfaire la qualité des informations et l'adaptation de la connaissance pour le plus grand nombre. Je citerai également, par chronologie des chapitres : *Laure Cayla*, responsable régionale Nouvelle-Aquitaine de l'Institut français de la vigne et du vin (IFV), ainsi que les collègues associés de l'Institut ; *Mathieu Bravin*, chercheur en biogéochimie au CIRAD ; *Laurence Denaix*, directrice de recherche à INRAE, biogéochimiste ; *Alexia Legeais*, chercheuse en écotoxicologie au sein de l'UMR EPOC-Université de Bordeaux-CNRS ; *Chloé Bonnineau*, chercheuse en écotoxicologie à INRAE ; *Christophe Leboulanger*, chercheur en écologie microbienne à l'IRD ; *Jacques Gautier*, expert national à l'INAO ; *Jacques Rousseau*, directeur des services viticoles au sein de l'Institut coopératif viticole (ICV) de Montpellier.

Dans chaque chapitre, nous avons pu prendre appui sur des réalités de terrain, dont un centre de gravité commun porté par le projet de recherche PhytoCOTE dans le vignoble girondin, que j'ai eu le grand plaisir de coordonner durant cinq années (2015-2019). Je tiens à remercier tous les viticulteurs, leurs conseillers sur le terrain, la coopérative des vignerons de Tutiac, pour leur collaboration efficace et tant nécessaire.

Bien évidemment nous exprimons également notre gratitude à l'égard des bailleurs de fonds sans lesquels nous n'aurions pu mener ces travaux de recherche conséquents, à la base de cet ouvrage : l'Agence nationale de la recherche, *via* le laboratoire d'excellence en sciences de l'environnement LabEx COTE de l'Université de Bordeaux, ainsi que la Région Nouvelle-Aquitaine. Celle-ci était représentée par *Lydia Héraud*, chargée de la viticulture, que je remercie chaleureusement de son soutien permanent et de son vif intérêt pour tous les travaux de recherche que nous avons pu mener. Sincères remerciements également à *Émilie Bourdenx*, chargée de mission au sein de la Région, qui a toujours suivi nos projets avec bienveillance.

Enfin, cet ouvrage n'aurait pu être édité sans la participation financière d'INRAE et je remercie les gestionnaires pour leur confiance. De même, aux éditions Quæ, ce projet de livre a été accueilli avec la plus grande bienveillance dès le premier échange par Véronique Véto, responsable éditoriale, que je remercie sincèrement. Puis dès l'envoi de son manuscrit, Valérie Mary, responsable de la production et Anne-Lise Prodel, chef de projet, nous ont guidés avec beaucoup de professionnalisme au fur et à mesure des échanges. Une mention particulière pour les graphistes Anaïs Naimi (Quæ) et Élise Druon (EliLoCom) qui ont donné avec talent un très bel aspect à nos figures. Enfin, nous exprimons toute notre reconnaissance à Anne Guirado, coordinatrice éditoriale, qui a corrigé notre texte avec une parfaite maîtrise littéraire et un œil de lynx, apportant une vraie plus-value à cet ouvrage.

In fine, j'espère sincèrement que ce livre, qui présente les recherches récentes sur la problématique des pesticides en viticulture, permettra aux divers lecteurs de recueillir le maximum d'informations utiles pour mener à bien la nécessaire transition écologique dans les différents pays de production viticole.

Introduction générale

Francis Macary

Pendant plus d'un demi-siècle, les progrès en génétique végétale, en agrochimie (fertilisants, pesticides), l'essor de la mécanisation et les différentes structures du développement agricole, sur fond d'accompagnement de la « banque verte », ont permis une très forte augmentation de la productivité en agriculture (Pujol et Dron, 1998). Le concept de production visait alors à l'augmentation des rendements des plantes cultivées, tout en éliminant les adventices et surtout les maladies cryptogamiques et ravageurs de ces plantes, sans questionnement sur l'impact de ces pratiques sur l'environnement et la biodiversité, ni sur la notion de tolérance avant d'engager les traitements chimiques.

Ainsi les intrants, pour l'essentiel des fertilisants et des pesticides reconnus pour leur efficacité et faciles à utiliser ont été appliqués durant cette période de façon systématique. Des chercheurs ont alerté sur la contamination des sols et des hydrosystèmes et sur la perte de biodiversité, du fait de l'usage excessif des pesticides (Carson, 1962 ; Hénin, 1980 ; Pelt, 2000 ; Barriuso, 2003). Les transferts des pesticides d'usage agricole, essentiellement depuis les parcelles d'épandage vers les cours d'eau, ont bien été étudiés (Aubertot *et al.*, 2005 ; Leenhardt *et al.*, 2022). Ces pesticides ont des effets délétères (directs et indirects) pour de nombreux organismes non-cibles des milieux récepteurs. La toxicité des molécules de synthèse, dont certaines sont cancérigènes, mutagènes, reprotoxiques (CMR) pour les utilisateurs, est désormais avérée (Zahm *et al.,* 1997 ; Inserm, 2021). Dès les années 2000, l'Union européenne a mis en œuvre une réglementation pour contrôler les substances chimiques les plus dangereuses (règlement Reach) et depuis, de multiples directives et règlements rendent les usages des pesticides de plus en plus contraignants. Nombre de ces molécules sont aujourd'hui interdites et l'usage des CMR est de plus en plus limité. Les acteurs du secteur agricole ont également pris conscience du changement nécessaire de leurs pratiques, compte tenu de cette réglementation, du poids médiatique grandissant dans l'opinion publique, et des conséquences de certaines pratiques.

La vigne est une plante particulièrement sensible à de multiples pathogènes, notamment fongiques, le mildiou et l'oïdium principalement, ainsi qu'à de nombreux ravageurs. De plus, l'exigence de qualité, aussi bien pour les raisins de table que pour ceux de cuve, destinés à l'obtention de vins aux meilleures propriétés organoleptiques, explique la nécessité d'obtenir une protection sanitaire optimale.

Cela se traduit par un nombre important de traitements chimiques, quel que soit le mode de production, conventionnel ou biologique.

Afin de mieux comprendre ces usages de la protection phytosanitaire en vigne, les critères de choix décisionnels des viticulteurs pour mener à bien cette protection, les transferts et les impacts des produits phytosanitaires sur les milieux connexes et les solutions alternatives dont l'application de base des concepts d'agroécologie par les viticulteurs, nous avons conduit pendant cinq ans un projet de recherche pluridisciplinaire, appelé PhytoCOTE, dans un secteur particulier du Bordelais, en continuum avec l'estuaire de la Gironde. Ce projet a été financé essentiellement par des fonds de l'Agence nationale de la recherche *via* le laboratoire d'excellence LabEx COTE[1] de l'Université de Bordeaux et par le Conseil régional de la Nouvelle-Aquitaine. Il a généré des travaux de recherche dans une démarche originale d'intégration des différents concepts et processus relatifs à l'usage des pesticides en viticulture. Il a suscité de multiples approches scientifiques pluridisciplinaires (agronomie, agroécologie, chimie environnementale, hydrobiologie, écologie, écotoxicologie, socio-économie).

Ce projet de recherche mené par des équipes de l'Université de Bordeaux, d'INRAE, du CNRS, de l'Ifremer, en relation étroite avec les acteurs socioprofessionnels locaux du secteur viticole et du domaine environnemental, constitue ainsi la genèse de cet ouvrage, élargi à la viticulture dans les pays producteurs sur les différents continents. Les expérimentations présentées ici ont été produites sur le terrain d'étude de PhytoCOTE afin que les lecteurs ciblés par l'ouvrage, principalement les gestionnaires agricoles et environnementaux, les professionnels de la filière viticole, ou encore les enseignants et les étudiants en écoles agronomiques et agricoles, puissent trouver des références concrètes en illustration aux approches scientifiques.

Dans chaque chapitre figure le témoignage d'un acteur socio-économique ou expert scientifique exprimant l'intérêt des méthodes et des résultats acquis par rapport à la problématique concrète des gestionnaires et des praticiens.

Le chapitre 1 est consacré à la présentation des divers pathogènes de la vigne, aux pratiques viticoles de conduite des vignobles, y compris hors de l'Hexagone, aux usages de la protection phytosanitaire et aux risques agroenvironnementaux pour les écosystèmes. Certains cépages et leur connexion avec les porte-greffes renforcent ou diminuent leur résistance intrinsèque par rapport aux maladies. De même, le comportement de la vigne face aux agressions des pathogènes est variable selon les caractéristiques des différentes régions pédoclimatiques. Les modes de production et les systèmes de conduite induisent également des comportements différenciés des viticulteurs, notamment face à l'aversion envers les risques phytosanitaires et leurs conséquences sur la perte qualitative et quantitative de récolte. Les risques agroenvironnementaux de contamination des sols, des eaux,

1. LabEx COTE : Évolution, adaptation et gouvernance des écosystèmes continentaux et côtiers.

de l'air lors des traitements sont élevés et d'importants travaux de recherche sur les agroéquipements sont menés pour trouver des solutions liées à la suppression des herbicides, à la dérive atmosphérique lors des traitements, aux pertes sur le sol, tout en optimisant la protection phytosanitaire.

Le témoin de ce chapitre, viticulteur en mode agrobiologique présente les raisons initiales du choix de son mode de production, alors peu répandu dans la région et au-delà, dès la reprise de l'exploitation familiale.

Le chapitre 2 montre les effets de l'accumulation et des transferts du cuivre dans les sols, suivant notamment ses différentes formes chimiques et les conditions de milieu : pH, quantité et nature de la matière organique. Il insiste en particulier sur l'importance de l'historique d'usage des sols pour comprendre les contaminations actuelles. Un bilan sur l'écotoxicité du cuivre vis-à-vis des plantes et des organismes telluriques souligne la nécessité de considérer la disponibilité de cet élément dans les sols pour mieux évaluer ses effets sur les organismes vivants. Enfin ce chapitre propose des pistes de gestion de la contamination cuprique.

La problématique du cuivre représente un enjeu important compte tenu des décisions réglementaires prises par la Commission européenne, alors que ce fongicide inorganique est aujourd'hui le seul capable de réguler les attaques de mildiou en viticulture biologique.

Les viticulteurs bio attendent des réponses très concrètes, d'une part sur la quantification et le suivi de l'impact du cuivre dans les sols, d'autre part en termes de substitution envisageable, mais pour l'heure il n'existe pas encore de réponse vraiment pertinente à cette problématique, ce qu'exprime aussi un responsable professionnel témoin en fin de chapitre.

Le chapitre 3 aborde le sujet des pesticides organiques de synthèse dans les sols et les eaux de surface. Il présente les différentes familles et groupes chimiques de pesticides utilisés en viticulture, les voies et mécanismes de leur dispersion dans l'environnement, les méthodes de surveillance de la contamination des sols et des eaux de surface. Concernant les sols, sont explicités les divers paramètres qui influencent leur rétention et leur dégradation. Le dosage de plus de 200 molécules dans les sols du site d'étude a permis de mettre en évidence la rémanence de certaines molécules aujourd'hui interdites mais également la présence de métabolites issus de la dégradation des molécules épandues. À l'échelle du bassin-versant, le transfert vers les aquifères suivis montre la variabilité de comportement selon les molécules et l'importance des conditions climatiques pour expliquer les concentrations mesurées.

Le responsable du service Environnement d'une collectivité locale témoigne de l'intérêt de ces actions pour ses préoccupations relatives à la qualité des eaux de surface des rivières au quotidien.

Le chapitre 4 illustre les réponses biologiques de plusieurs espèces (diatomées périphytiques, bivalves filtreurs, poissons) aux contaminations des pesticides. Différentes approches utilisées en écotoxicologie permettent de déterminer la réponse des organismes. Sont évoqués les modalités d'entrée des pesticides et

métaux au sein des organismes aquatiques et les multiples facteurs permettant de décrire et interpréter la bioaccumulation des polluants. La connaissance des nombreux effets des polluants sur les organismes est essentielle pour mieux former les gestionnaires aux impacts de ces pesticides sur le biote et aux mesures nécessaires pour en réduire les effets. Le bassin-versant d'étude du projet PhytoCOTE a servi de support aux expérimentations pour les travaux de recherche.

Un gestionnaire de syndicat local intercommunal important met en exergue l'intérêt de ces travaux face aux priorités de gestion.

Le chapitre 5 traite du sujet particulier de la bioaccumulation des pesticides organiques dans les biofilms de rivière. Ces pesticides peuvent avoir des effets délétères sur les organismes exposés, notamment sur les communautés microbiennes au sein des biofilms. Ces derniers sont capables de bioaccumuler les contaminants organiques à différentes périodes de l'année. Du fait de leur ubiquité dans les cours d'eau, l'analyse de ces biofilms permet de renseigner quant à la qualité chimique des milieux aquatiques. L'étude de la bioaccumulation des pesticides organiques dans les biofilms, comme présentée dans l'étude de cas de ce chapitre, a permis de mettre en avant l'intérêt de ces derniers pour la caractérisation des transferts des pesticides entre leurs usages et leur présence dans l'environnement.

Concernant notamment les données nécessaires à la phytopharmacovigilance, le témoignage d'un expert de l'Anses montre à quel point ces travaux sur les biofilms sont essentiels à l'amélioration des conditions de surveillance des eaux de surface et des sols et à la caractérisation des effets indésirables des pesticides.

Le chapitre 6 permet de comprendre les modes d'évaluation du potentiel toxique des pesticides sur certaines espèces de microalgues marines. Celles-ci représentent des cibles potentielles pour les herbicides par leur proximité métabolique (photosynthèse) et biochimique (pigments, enzymes, etc.) avec les végétaux supérieurs. L'étude porte également sur des substances insecticides et fongicides, la toxicité des fongicides de synthèse vis-à-vis du phytoplancton étant globalement très peu documentée dans la littérature scientifique. La question de l'impact des molécules en mélanges pose un réel problème d'appréciation de la toxicité globale des substances utilisées pour le traitement des cultures. L'effet combiné de substances peut être supérieur (mélange synergique) ou inférieur (mélange antagoniste) à celui prédit sur la base de la toxicité des substances seules. Ces travaux sont essentiels pour nous permettre d'identifier les composés les plus toxiques pour les microalgues marines et ainsi d'améliorer notre compréhension des impacts anthropiques sur les milieux récepteurs.

Le témoignage d'un gestionnaire d'agence de l'eau illustre bien les attentes sur le terrain de ces travaux susceptibles de faire évoluer très positivement les méthodes de surveillance des eaux.

Le chapitre 7 présente des stratégies d'évolution des systèmes viticoles et des scénarios prospectifs pour une réduction des pesticides dans le cadre de la transition agroécologique. L'action des politiques publiques dans les pays producteurs du

monde en vue de réduire fortement la pression exercée par les produits phytopharmaceutiques sur les milieux est d'abord évoquée. Dans ce chapitre sont rappelés les labels et différentes certifications adoptés pour accompagner les mesures pratiques nécessaires. L'agroécologie est présentée comme un nouveau mode de raisonnement en vue de l'adaptation des systèmes de production et d'application de nouvelles pratiques de conduite de la vigne. Des scénarios prospectifs innovants en agroécologie, bâtis sur la zone d'étude du projet PhytoCOTE, montrent des performances socio-économiques et environnementales supérieures à tous les systèmes étudiés sur le terrain. D'autres voies complémentaires sont évoquées dont celle de la génétique, le développement conséquent des méthodes de biocontrôle, les outils de précision et la robotique pour un désherbage mécanique, l'évolution des équipements de pulvérisation. Enfin de multiples freins d'ordre économique, technique, psychologique et réglementaire existent et sont analysés.

Le témoignage d'un viticulteur devenu expert en agroécologie présente avec objectivité les critères de choix de ses orientations, mais aussi les difficultés réelles et ses préoccupations pour l'avenir, eu égard notamment aux futures contraintes dérivant du changement climatique pour assurer une bonne protection sanitaire des vignobles.

Toutes les références numériques et liens hypertextes mentionnés dans cet ouvrage ont été vérifiés et étaient actifs à la date du 31 septembre 2022.

Références bibliographiques et numériques

Aubertot J.N., Barbier J.M., Carpentier A., Gril J.J., Guichard L., Lucas P. *et al.*, 2005. *Pesticides, agriculture et environnement : réduire l'utilisation des pesticides et en limiter les impacts environnementaux. Expertise scientifique collective*. Paris : Institut national de la recherche agronomique ; Antony : Cemagref, 902 p.

Barriuso E. (coord.), 2003. *Estimation des risques environnementaux des pesticides*. Paris : Institut national de la recherche agronomique, 123 p.

Carson R., 1962. *Silent Spring*. Boston : Houghton Mifflin Company, 368 p.

Hénin S., 1980. *Rapport du groupe de travail activités agricoles et qualité des eaux, tome II. Sous-groupes : effluents d'élevage, produits phytosanitaires, systèmes de cultures*. Paris : Ministère de l'Agriculture et ministère de l'Environnement et du cadre de vie, 294 p.

Inserm (Institut national de la santé et de la recherche médicale), 2021. *Pesticides et effets sur la santé : nouvelles données*. Montrouge : EDP Sciences, 164 p. (coll. Expertise collective). https://www.inserm.fr/wp-content/uploads/2021-06/inserm-expertisecollective-pesticides2021-synthese.pdf.

Leenhardt S., Mamy L., Pesce S., Sanchez W., Amichot M., Artigas J. *et al.*, 2022. *Impacts des produits phytopharmaceutiques sur la biodiversité et les services écosystémiques. Synthèse de l'expertise collective*. Paris : INRAE-Ifremer, 136 p.

Pelt J.M., 2000. *La terre en héritage*. Paris : Fayard, 277 p.

Pujol J.L., Dron D., 1998. *Agriculture, monde rural et environnement : qualité oblige*. Paris : Ministère de l'Aménagement du territoire et de l'Environnement, La documentation française, 589 p.

Zahm S.H., Ward M.H., Blair A., 1997. Pesticides and cancer. *Occupational Medicine* 12(2), 269-289.

1

Maladies et ravageurs de la vigne, pratiques viticoles et usages des pesticides, risques agroenvironnementaux

Francis Macary, Pascal Guilbault

Introduction et contexte

Comme la plupart des plantes cultivées, la vigne est une plante sensible aux maladies liées aux champignons (cryptogames) et aux attaques de ravageurs. Les bioagresseurs potentiels sont nombreux : ravageurs aériens (telles les tordeuses de la grappe, eudémis et cochylis, ou certaines cicadelles dont l'une est vectrice de la flavescence dorée) ou souterrains (phylloxéra) ; maladies d'origine cryptogamique (dont le mildiou, l'oïdium, le botrytis, le black-rot…), bactérienne ou virale (Aubertot *et al.*, 2005).

L'influence des bioagresseurs est fortement dépendante du climat et de la sensibilité du matériel végétal. De même, l'importance de la concurrence hydrique et minérale des pieds de vigne par les adventices (plantes non installées intentionnellement par le viticulteur) sera dépendante du climat, du type de sol et de la sensibilité du matériel végétal.

Ces bioagresseurs peuvent menacer les rendements, la qualité de la récolte et même la survie des souches (agents responsables de dépérissement ou de dégénérescence).

Or, le viticulteur a pour objectif de produire des raisins sains, de cuve ou de table, mais dans tous les cas, de qualité et en quantité suffisante eu égard aux rendements permis par les diverses appellations et indications géographiques protégées.

Depuis toujours, les viticulteurs ont ainsi eu à assurer une protection phytosanitaire[2] de leur vignoble. Car en l'absence de cette protection, les plants de vigne peuvent être infectés par un germe porté par le vent ou par des agents vecteurs.

---

2. Protection phytosanitaire : usage de produits phytosanitaires, ou produits phytopharmaceutiques, c'est-à-dire une substance ou un mélange de substances de nature chimique ou biologique (d'origine naturelle ou de synthèse) employés en agriculture pour protéger les plantes cultivées contre les bioagresseurs (ravageurs animaux, agents phytopathogènes, plantes parasites, plantes adventices).

La contamination s'étend alors aux pieds voisins, à la parcelle, puis à celles alentour et ainsi de suite. La maladie installée progresse au fil des ans et son éradication devient de plus en plus difficile. La conséquence directe en est une perte de qualité et de quantité pouvant aller jusqu'à une destruction totale de la récolte. Cela est redouté dans tous les vignobles.

Par ailleurs, les aléas climatiques sont de plus en plus fréquents (gel, orages, forte pluviométrie saisonnière avec alternance de périodes sèches, forte hydrométrie…), très directement liés au changement climatique (Ollat *et al.*, 2013). Ces dérèglements contribuent fortement à accentuer la pression des pathogènes de la vigne, entraînant ainsi un usage important de produits phytosanitaires afin de conserver le niveau de production et sa qualité. Ainsi, en France, la vigne occupe environ 3 % de la SAU (Surface agricole utilisée) mais concentre 20 % du tonnage total de matières actives des produits phytosanitaires commercialisés, dont 80 % de fongicides (Mezière et Gary, 2009). Elle utilise beaucoup de produits pondéreux tels que le cuivre ou le soufre, notamment en agriculture biologique. De façon globale, les ventes de pesticides en France représentaient 71 074 tonnes en 2017, près de 85 000 tonnes en 2018 contre 65 341 tonnes en 2020 (MASA, 2021). L'année 2018 était marquée par une très forte pression phytosanitaire liée aux conditions climatiques favorables aux cryptogames et à une anticipation de la hausse du prix des produits au 1er janvier 2019 par le fait de l'augmentation de la redevance sur les pollutions diffuses : beaucoup de producteurs anticipèrent donc leurs achats pour la campagne 2019.

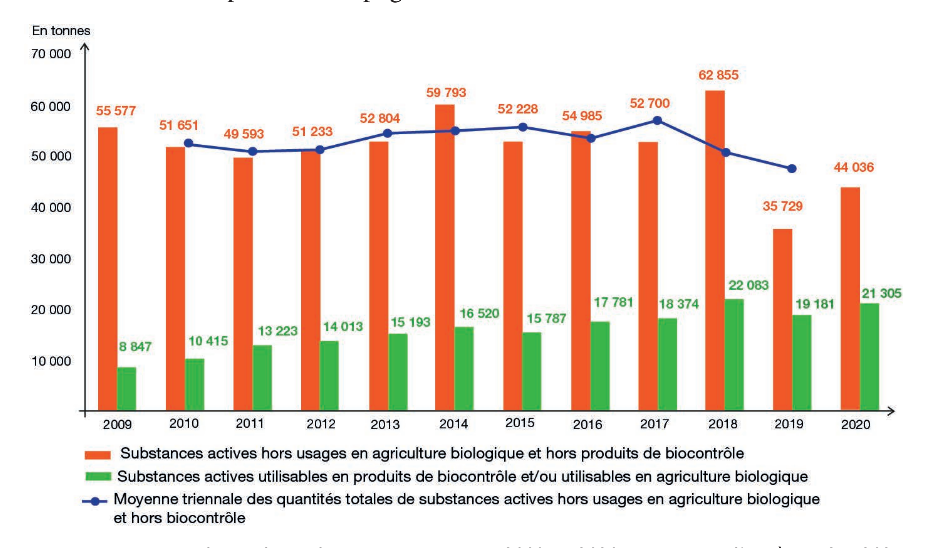


Figure 1.1. Ventes de produits phytosanitaires entre 2009 et 2020 en France (d'après MASA, 2021).

La figure 1.1 traduit une tendance globale de diminution des ventes de produits organiques de synthèse au cours des dernières années et une augmentation des substances actives utilisées en agriculture biologique et produits de biocontrôle, dont le cuivre et le soufre en viticulture.

Mais ces valeurs doivent être mises en relation avec les surfaces correspondantes. En effet, même si le pays possède la plus grande surface agricole utilisée (SAU), il ne se classe qu'au 9e rang européen de l'usage des pesticides lorsque les ventes sont rapportées à cette SAU (2,5 kg/ha).

Quand la maladie est bien installée, il est très difficile de la combattre et l'usage des traitements curatifs de synthèse, notamment à base de produits pénétrants[3] ou systémiques[4] est généralement nécessaire. Aussi les viticulteurs privilégient-ils la lutte préventive avec une vigilance permanente, notamment par rapport aux conditions météorologiques.

Les structures d'exploitation ont fortement évolué au fil du temps, avec une augmentation des surfaces moyennes en vigne. Au dernier recensement agricole de 2020 en France, les exploitations viticoles représentaient 15 % de l'ensemble avec une surface moyenne de 19 ha (Barry et Polvêche, 2021). De ce fait, les observations biologiques au vignoble deviennent complexes lorsque le viticulteur gère plusieurs dizaines d'hectares et dispose d'un laps de temps assez court pour effectuer ses traitements. Le mode d'exploitation conventionnel raisonné est alors plus développé dans ce contexte par rapport au mode biologique qui ne peut utiliser que le cuivre (à action préventive) contre le mildiou. Ces traitements préventifs de surface sont le plus souvent remplacés en conventionnel par des produits chimiques de synthèse (organiques) pénétrants, voire systémiques, dont la toxicité est également supérieure à celle des produits inorganiques. Des solutions alternatives existent déjà, dont le désherbage mécanique, systématiquement utilisé en mode biologique, certains produits de biocontrôle[5] (phéromones sexuelles contre les vers de la grappe, soufre contre l'oïdium) ; d'autres se développent afin de réduire le plus possible l'usage des produits organiques de synthèse, notamment les plus écotoxiques dans l'environnement et toxiques à l'égard des humains. Parallèlement, des recherches sont conduites afin de trouver des substituts naturels au cuivre utilisé surtout contre le mildiou.

Par ailleurs, la pression sociétale contre l'usage des produits phytosanitaires ne cesse de s'amplifier et des mesures réglementaires de protection des établissements sensibles et des habitations (distances d'éloignement des traitements) ont été édictées dans chaque région viticole en France (MAA, 2019).

Dans ce chapitre, seront successivement évoquées les caractéristiques de la vigne et sa sensibilité aux pathogènes ; les principales maladies et les ravageurs ; puis

3. Produit pénétrant : produit qui pénètre dans le végétal à l'endroit où il a été déposé. Il devient non lessivable, mais ne protège pas les nouvelles pousses de la maladie.

4. Produit systémique : produit adsorbé par la plante, puis véhiculé par la sève de façon que toutes les parties du végétal soient protégées, y compris les jeunes pousses, durant le délai de persistance d'environ 14 jours.

5. Le biocontrôle groupe l'ensemble des méthodes de protection préventives des cultures en s'appuyant sur des mécanismes naturels de régulation des bioagresseurs. Il fait partie des techniques de lutte intégrée. Il s'appuie sur des notions d'équilibre entre les différentes espèces. Son action vise, non pas l'éradication d'un parasite ou d'un pathogène, mais à limiter sa présence pour qu'il ne soit pas nuisible aux plantes cultivées.

les pratiques et usages des pesticides dans les vignes et les risques agroenvironnementaux pour les écosystèmes. Les questions de toxicologie en relation avec les contaminations des humains par les produits phytosanitaires sont très spécifiques et ne seront pas abordées dans cet ouvrage.

La vigne, une plante sensible aux pathogènes

La sensibilité de la vigne aux divers pathogènes est multifactorielle ; elle dépend notamment des caractéristiques intrinsèques des divers cépages et porte-greffes et de sa répartition géographique sur les territoires. Rappelons d'abord l'importance de la viticulture à l'échelle mondiale et européenne.

Historique et importance du vignoble du national au mondial

Les chiffres de la production mondiale de raisins de cuve et de consommation (OIV, 2019) sont donnés dans le tableau 1.1.

Tableau 1.1. Surface en vigne et production au niveau mondial en 2018.

Pays	Surface en vigne (milliers ha)	Production Raisins (millions de tonnes)* Vins (millions hl)
Niveau mondial	7 400	Raisins : 78 Vins : 292
Union européenne	3 324	NC
Espagne	969	Raisins : 6,9 Vins : 44,4
Italie	705	Raisins : 8,6 Vins : 54,8
France	793	Raisins : 5,5 Vins : 48,6
Chine	875	Raisins : 11,7 Vins : 9,1
États-Unis	439	Raisins : 6,9 Vins : 23,9

* Raisins : tous types d'utilisation (cuve et table).

Les niveaux de production annuels varient énormément en fonction des conditions climatiques. Par exemple, la récolte affichée de la Chine représente une récession de - 22 % par rapport à l'année précédente.

Les porte-greffes, une sauvegarde des vignes face au phylloxéra

La vigne est actuellement une plante dont le cépage (variété) est greffé sur un pied appelé porte-greffe, résistant à un puceron dévastateur des racines : le phylloxéra.

Jusqu'au milieu du xixe siècle, les rameaux de vigne (*Vitis vinifera*) pour chaque cépage étaient directement plantés dans le sol. Ces plants étaient alors des

producteurs directs, « francs de pied ». Mais l'arrivée, à partir des années 1860, de ce puceron nommé phylloxéra (*Daktulosphaira vitifoliae*), suite à des tentatives d'acclimatation en Europe de vignes américaines (*Vitis labrusca, V. riparia, V. berlandieri, V. aestivalis*…), a porté un énorme préjudice à la viticulture. Ce puceron a pour caractéristiques de piquer les racines des pieds de vigne, ce qui induit le développement d'une forte infection, et donc un affaiblissement des pieds si intense qu'ils meurent en 2 ou 3 ans. Les piqûres sur les feuilles développent des galles, sortes de boursoufflures provoquant un jaunissement du feuillage, mais elles ne sont pas létales pour le pied de vigne.

De plus la propagation de ce prédateur est très rapide. En un siècle et demi, le vignoble européen a été quasiment dévasté. En conséquence, les replantations faites depuis l'ont été à partir de cépages *Vinifera* greffés dans un premier temps sur des porte-greffes américains, puis sur des hybrides franco-américains, résistants au phylloxéra et adaptés à la nature des sols et au climat. Les porte-greffes sont également choisis pour la vigueur qu'ils confèrent au greffon (BIVB, 2021) et par voie de conséquence une sensibilité plus ou moins forte aux maladies cryptogamiques. Le tableau 1.2 présente les principales caractéristiques des porte-greffes les plus cultivés en France.

Tableau 1.2. Caractéristiques des principaux porte-greffes plantés en France, d'après FranceAgriMer (2018) (BIVB, 2021).

Porte-greffes	110 Richter	SO4	3309 Couderc	Fercal	140 Ru (140 Ruggieri)	41 B
Importance pépinières	1er 388 ha	2e 384 ha	3e 288 ha	4e 246 ha	5e 159 ha	6e 140 ha
Tolérance phylloxéra	Bonne	Élevée	Bonne	Très élevée	Bonne	Élevée
Résistance chlorose	Moyenne à bonne	Moyenne à bonne	Faible	Très bonne	Bonne	Bonne
Tolérance sécheresse	Très bonne	Moyenne à bonne	Faible	Moyenne à bonne	Très bonne	Sensible
Tolérance humidité	Très sensible	Faible à moyenne	Sensible	Bonne tolérance	-	Sensible
Types de sol conseillés	Sols secs, maigres, caillouteux, peu calcaires	Sols argilo-calcaires et sols sablonneux	Sols profonds, argilo-sableux, limono-argileux, peu calcaires	Sols lourds, sols calcaires	Sols calcaires superficiels, secs, maigres, caillouteux	Sols calcaires
Vigueur sur cépage	Élevée	Élevée	Faible à moyenne	Moyenne à élevée	Très forte	Moyenne à élevée

Le SO4 est un porte-greffe qui a été fortement utilisé dans les années 1970-1980 pour obtenir des vignes plus vigoureuses, à plus forte production, avant

d'être remplacé par des porte-greffes plus qualitatifs. Son usage était notamment bien adapté pour les vins destinés à la distillation (type cognac et armagnac en France) ou pour produire des jus de raisin. Compte tenu des baisses de rendement constatées ces dernières années dans les vignobles, on peut aujourd'hui lui retrouver un certain intérêt.

Les cépages ou variétés de *Vitis vinifera*

Le choix du cépage, variété de vigne du genre *Vitis vinifera,* représente une étape fondamentale dans l'implantation d'une vigne. Le viticulteur l'effectue en fonction du type de vin qu'il souhaite produire, selon le contexte pédoclimatique. Mais ce choix tient également compte de la réglementation en vigueur, qui impose une liste de cépages autorisés pour chaque type d'appellations de vins.

Pour choisir les cépages les mieux adaptés dans leur contexte, les Européens bénéficient d'une expérience ancestrale de 4 000 ans dans la culture de la vigne. Chaque région viticole sur le Vieux Continent a ainsi sélectionné les plus adaptés au contexte pédoclimatique local. En conséquence, il en existe des centaines. Le potentiel aromatique et gustatif de chaque cépage varie selon le terroir sur lequel il est implanté (Casamayor, 2002). Par exemple, le merlot sera valorisé sur des sols argileux ; le cabernet-sauvignon sur des graves ; le chardonnay sur des terrains calcaires et des marnes, tout comme le pinot ; le gamay, la syrah ou le viognier sur des granites ; le grenache sur des schistes.

Dans le monde, les « nouveaux » pays producteurs de vin ont choisi des cépages du Vieux Continent. Ainsi, six cépages produisent 80 % des vins du monde. Ils proviennent surtout de France, mais aussi d'Italie, d'Espagne, de Hongrie, du Portugal, de Géorgie et d'Afrique du Sud.

Le pinot noir originaire de Bourgogne s'est imposé dans les différents pays viticoles au niveau mondial, et notamment en Chine. Le malbec (côt) a été importé en Argentine à Mendoza et le carménère au Chili. Le tannat du Madiran a été implanté sur la rive nord du Rio de la Plata en Uruguay (Jobé, 1994).

Mais tous ces cépages traditionnels européens ont un point commun : ils sont sensibles aux divers pathogènes de la vigne.

Principales maladies et ravageurs de la vigne

En Europe, la situation sanitaire actuelle des vignobles résulte essentiellement d'une succession de crises majeures durant la seconde moitié du XIXe siècle (Pelsy et Merdinoglu, 2021). À cette époque, des agents pathogènes responsables des quatre maladies fongiques majeures de la vigne ont été introduits accidentellement depuis les États-Unis : le phylloxéra, le mildiou, l'oïdium et le black-rot. N'ayant jamais auparavant été en contact avec ces pathogènes, les vignes européennes s'y sont révélées très sensibles et font, depuis, l'objet de protections phytosanitaires permanentes.

Les pathogènes de la vigne étant nombreux, nous n'évoquerons ici que les plus emblématiques. Le tableau 1.3 présente les maladies fongiques les plus répandues dans les vignobles.

Tableau 1.3. Principales maladies cryptogamiques de la vigne, d'après : Reynier, 2016 ; Chambre d'agriculture de la Gironde *et al.*, 2017 ; Pelsy et Merdinoglu, 2021.

Maladie	Agent vecteur	Conditions de développement	Conditions de conservation
Mildiou	Un oomycète, *Plasmopara viticola* : champignon à mycélium non cellulaire et à reproduction sexuée par oogamie.	Il ne peut se développer que sur la plante parasitée. Au printemps, les zoospores en présence d'humidité et de T > 12 °C sont projetées sur les parties aériennes.	Reproduction sexuée dans les feuilles anciennes avec production des œufs d'hiver ou oospores.
Oïdium	Un ascomycète, *Uncinula necator*. Il se propage par des conidies (spores) sous l'effet du vent.	Au printemps, avec humidité et T > 11 °C. Le mycélium se développe à la surface des organes et des suçoirs absorbent les éléments nutritifs dans la plante.	Il hiverne dans l'écorce des ceps ou dans les bourgeons dormants.
Pourriture grise	Un ascomycète, *Botrytis cinerea*. Il se propage par des conidies sous l'effet du vent et de la pluie.	Au printemps, le champignon se développe sur les tiges, les feuilles et les fleurs et produit des spores qui infectent les grappes par le vent ou la pluie. À la véraison, les baies se ramollissent en changeant de couleur.	Conservation sous forme de sclérotes et de mycéliums sur les sarments.
Black-rot	*Guignardia bidwellii*. Les périthèces contiennent des asques qui libèrent des ascospores générant une contamination primaire. Puis des pycnides se forment sur les feuilles et libèrent des spores en contamination secondaire.	Développement après une pluie abondante favorisant la germination des spores et température de 9 °C.	Il hiverne en l'état d'organes résistants : pycnides et périthèces, soit sur sarments, rafles, vrilles, soit sur les grains tombés au sol.

Bien évidemment, il existe d'autres maladies cryptogamiques. C'est notamment le cas de l'excoriose (*Phomopsis viticola*) qui se développe à l'origine sur les rameaux, lesquels se fragilisent, la maladie pouvant s'étendre sur le feuillage et les raisins. Les fongicides permettent de limiter son développement et les pertes potentielles sont moindres par rapport aux maladies précédemment citées.

D'autres types de champignons affectent la structure interne des bois jusqu'à la mort des ceps. Le tableau 1.4 en présente une synthèse.

Tableau 1.4. Principales maladies du bois, d'après : Larignon et Yobrégat, 2016 ; Chambre d'agriculture de la Gironde *et al.*, 2017.

Maladie	Agent vecteur	Conditions de développement	Conditions de conservation
Esca (plusieurs champignons)	Plusieurs champignons basidiomycètes, en particulier *Phaeomoniella chlamydospora, Phaeoacremonium minimum,* qui se développent à partir de nécroses issues de l'action d'autres champignons.	Les champignons pénètrent par les plaies de taille importantes et développent le mycélium dans le bois, puis le transforment en amadou (pourriture blanche). Étés chauds et pluvieux.	La conservation se fait sur des ceps malades ou morts. Cependant, d'autres espèces ligneuses peuvent abriter ces champignons.
Eutypiose	*Eutypa lata*. Propagation de la maladie par des ascospores produites par des périthèces présents sur les bois contaminés.	Printemps humides et plaies de taille.	Entrée des ascospores par les plaies de taille et conservation, puis développement, dans le bois contaminé.
Botryosphaeriose ou black dead arm (BDA)	*Neofusicoccum parvum* et *Diplodia seriata* : champignons ascomycètes de la famille des Botryosphaeriaceae.	Se manifeste à partir de la floraison de la vigne. Favorisé par une période sèche qui diminue le flux de sève.	Conservation dans les bois atteints.

Certains cépages présentent une sensibilité accrue à ces maladies du bois. Ainsi le cabernet-sauvignon, le sauvignon, le chenin et l'ugni blanc sont sensibles à ces trois types de maladies. Certains sont plus sensibles à l'eutypiose : le cinsaut, la négrette, la muscadelle, chasselas ; d'autres à l'esca et au BDA, comme le côt. Des maladies bactériennes et à phytoplasmes sont également préoccupantes (tableau 1.5).

Tableau 1.5. Principales maladies bactériennes et à phytoplasmes de la vigne.

Maladie	Agent vecteur	Conditions de développement	Conditions de conservation
Nécrose bactérienne	*Xylophilus ampelinus*, une bactérie qui circule dans les vaisseaux de la plante et peut les obstruer.	Printemps pluvieux sur vigne vigoureuse, et sols humides.	Conservation sur les bois vivants et 5 à 6 mois sur des bois de taille laissés au sol.
Flavescence dorée. Agent de la maladie : *Candidatus phytoplasma vitis*	Deux possibilités : - soit une cicadelle *Scaphoïdeus titanus* qui ne vit que sur la vigne et propage alors la maladie (phytoplasmes) sur toute la zone, - soit un agent pathogène importé sur des bois malades.	Conditions climatiques favorables à la prolifération des cicadelles : hiver froid et été chaud dans une zone à risque ; importation de plants ou bois porteur de mycoplasmes, voire œufs de cicadelles.	Le phytoplasme (petite bactérie sans paroi) est localisé dans le liber de la plante où il circule et se conserve.

Les cépages cabernet-sauvignon, sauvignon, malvoisie, par exemple, sont très sensibles à la flavescence dorée (FD), contrairement au merlot, au sémillon, à l'ugni blanc, au grenache et au colombard. Lorsqu'elle est présente dans un vignoble, la lutte contre la FD, maladie de quarantaine, est rendue obligatoire, car elle peut totalement décimer un vignoble. Elle nécessite un ou plusieurs traitements contre le vecteur de la maladie, à savoir la cicadelle spécifique, *Scaphoïdus titanus,* suivant l'importance de sa présence.

D'autres types de cicadelles génèrent également des pathologies, mais nettement moins graves que celle de la FD : c'est notamment le cas de la cicadelle verte (*Empoasca vitis*) ou cicadelle des grillures, et de la cicadelle pruineuse (*Metcalfa pruinosa*), qui peuvent entraîner des pertes quantitatives et qualitatives de raisins, lors de fortes infestations.

Certaines maladies à virus frappent également les vignobles (tableau 1.6).

Tableau 1.6. Maladies à virus de la vigne.

Maladie	Agent vecteur	Conditions de développement	Conditions de conservation
Court-noué ou dégénérescence infectieuse	Les viroses se transmettent : - soit par des nématodes (*Xiphinema index*) qui vivent dans le sol et piquent les racines des plantes (malades et saines), - soit par greffage de matériel de multiplication issu de vignes mères malades.	Le développement au champ des viroses tient à la présence des nématodes dans le sol et sur les débris de racines dans le cas de vignes arrachées, d'où la nécessité d'extirper le maximum de racines et de respecter un repos du sol d'au moins 7 ans avant replantation.	Le virus vit dans les cellules des plantes contaminées et y induit des troubles qui modifient leurs capacités à produire, en quantité et en qualité. Il entraîne un vieillissement prématuré de celles-ci.

De multiples ravageurs sont également des parasites de la vigne. Le plus connu est le phylloxéra, précédemment évoqué, contre lequel les porte-greffes américains offrent une bonne résistance. Le tableau 1.7 présente quelques principaux ravageurs.

Ainsi, de multiples pathogènes (cryptogames, ravageurs…) affectent la vigne qui nécessite une protection sanitaire si l'on veut préserver la quantité et la qualité des baies des raisins, tant pour la production de vins de cuve que pour celle des raisins de table. Dans certaines situations (maladies du bois, flavescence dorée), les affections peuvent être létales pour les ceps.

À cela viennent s'ajouter les adventices qui peuvent être considérées comme concurrentes des pieds de vigne pour l'eau et les minéraux, en particulier en post-plantation et suivant les contextes pédoclimatiques.

Les viticulteurs dans le monde ont toujours su adapter les modes de conduite de la vigne aux caractéristiques pédologiques et climatiques de leurs terroirs, suivant la nature du matériel végétal et le type de vins produits. Les futurs challenges consistent à adapter la vigne aux conséquences des changements climatiques, tout

en réduisant au maximum l'usage des produits phytosanitaires. Les pratiques de protection sanitaire du vignoble seront évoquées à la page suivante.

Tableau 1.7. Principaux ravageurs de la vigne.

Pathologie	Agent vecteur	Conditions de développement	Conditions de conservation
Tordeuses ou vers de la grappe	Deux papillons : la cochylis (*Eupoecilia ambiguella*) et l'eudémis (*Lobesia botrana*)	Ponte des œufs sur les jeunes baies, avec migration des larves à l'intérieur. Les perforations sont des voies d'entrée pour les cryptogames et les larves se nourrissent des baies.	Cochylis et eudémis passent l'hiver à l'état de chrysalides sous l'écorce des ceps ou dans les fentes des piquets de vigne. Au printemps, les chrysalides se transforment en papillons.
Araignées rouges et araignées jaunes	Les acariens vecteurs particulièrement dommageables pour les jeunes vignes sont de deux types : acariens rouges (*Panonychus ulmi*) et acariens jaunes (*Eotetranychus carpini* et *Tetranychus urticae*).	Lors du débourrement, ils reprennent leurs activités et piquent les bourgeons ainsi que la face inférieure des jeunes feuilles pour se nourrir. Ils commencent à pondre sur la face inférieure des feuilles.	Les acariens hivernent exclusivement sous la forme de femelles dites « deutogynes » qui se réfugient dans l'écorce du bois à la base des sarments ou sous les écailles des bourgeons inférieurs.
Acariose	Phytopte *Calepitrimerus vitis*	Elle se manifeste au départ de la végétation en provoquant un arrêt du développement des bourgeons et des pousses.	L'hivernation du phytopte se fait sous l'écorce, dans les fissures à la base des sarments ou sous les écailles des bourgeons.
Érinose	Phytopte *Colomerus vitis*	Dès le printemps, les jeunes feuilles présentent des boursouflures à la face supérieure du limbe, couvertes d'un feutrage blanc qui brunit progressivement. Plusieurs générations se succèdent.	L'hivernation s'effectue comme celle du phytopte de l'acariose.
Pyrale de la vigne	*Sparganothis pilleriana*	Dès le développement des jeunes feuilles, les chenilles les dévorent et les agglomèrent en paquets, puis elles migrent vers les jeunes grappes sur lesquelles elles tissent une toile.	La pyrale passe l'hiver à l'état de chenille, enveloppée d'un petit cocon blanc, sous l'écorce d'un bois ou dans les fissures des piquets de vigne.

Pratiques viticoles et usages des pesticides dans les vignobles du monde

Spécificité de la vigne par rapport aux productions d'autres filières

La vigne, tout comme les vergers, est une plante pérenne installée pour plusieurs décennies, le plus souvent une quarantaine d'années et plus en zone d'AOP. Les exigences en termes de niveau de production tendent à user plus rapidement les pieds de vigne qui, comme toute plante pérenne, cumule et garde la mémoire des difficultés d'une année sur l'autre.

De plus, elle est implantée en monoculture, contrairement aux cultures annuelles dont la rotation sur une parcelle est un moyen efficace pour briser l'action des pathogènes, maladies et ravageurs. Dans certains vignobles, les surfaces de monoculture sont importantes. Citons par exemple : en France, le Bordelais, la Bourgogne, la Champagne, l'Alsace, les Pays de la Loire et ou encore le vignoble méridional d'Occitanie, ; le grand vignoble de la Mancha en Espagne ; Vinho verde et Douro au Portugal ; les vignobles septentrionaux d'Italie, voire de la Région centrale et méridionale ; bien évidemment le vignoble de Californie aux États-Unis ; la région de Mendoza en Argentine ; les vins dits « du Nouveau Monde » : Afrique du Sud, Australie… (Dard, 1994).

Sur tous les continents, les vignobles offrent ainsi aux bioagresseurs des conditions d'implantation stables et des conditions de multiplication très rapides.

Contrairement à des filières où le rendement prime, en viticulture, qu'il s'agisse des raisins de table ou de cuve, la qualité est primordiale, d'où la nécessité d'un bon état sanitaire.

Différences entre régions pédoclimatiques : océaniques, méridionales, septentrionales

La vigne appartient à la famille des Vitacées (ou Ampélidacées), largement représentée sur toutes les surfaces cultivées à l'échelle de la planète. Mais c'est principalement le genre *Vitis* et l'espèce *vinifera* qui produisent des raisins comestibles, dont le jus fermenté donnera le vin. Cette vigne ne prospère que dans les limites des zones tempérées des deux hémisphères, entre les 50e et 30e degrés de latitude nord et entre les 30e et 40e degrés de latitude sud (Jobé, 1994). Elle ne résiste ni à un trop grand excès de chaleur, accompagnée d'une sécheresse rigoureuse, ni à des grands froids successifs, ni à des pluies trop abondantes.

Les différentes grandes régions géographiques possèdent des climats et des sols spécifiques qui induisent un comportement très différent des divers pathogènes de la vigne. Ainsi, mildiou, black-rot, botrytis auront un développement d'autant plus important qu'ils seront sous influence d'un climat humide, tel le climat océanique, et ce d'autant que les sols plus ou moins argileux et riches jouent un rôle majeur face à l'humidité. En revanche, la propagation des spores du champignon de l'oïdium est essentiellement assurée par le vent ; en conséquence, les régions

très ventées, comme celles sous influence du mistral ou de la tramontane, dans les vignobles méridionaux en France, seront très sensibles à sa propagation. Les sols y sont également plus arides et retiennent beaucoup moins l'humidité. Le climat très chaud et sec et des sols plus arides sont nettement moins favorables au mildiou. Dans les vignobles plus septentrionaux, les températures plus douces avec un ensoleillement moindre (excepté en Alsace et en région continentale de façon générale) permettent aux maladies de s'installer assez facilement.

L'origine de la vigne se situe dans le Caucase (Géorgie et Arménie), dans les îles de la mer Égée et en Égypte. Certains vignobles du Japon, dans le centre et l'est de l'Amérique du Nord, n'ont pas connu des conditions favorables et sont restés à un niveau assez faible de développement. Ainsi, l'état actuel des surfaces viticoles dans le monde résulte de multiples facteurs liés aux caractéristiques des activités humaines à l'intérieur des limites climatiques favorables.

L'Organisation internationale de la vigne et du vin définit le « terroir vitivinicole » comme un concept qui se réfère à un espace sur lequel se développe un savoir collectif, des interactions entre un milieu physique et biologique identifiable et les pratiques vitivinicoles appliquées, qui confèrent des caractéristiques distinctives aux produits originaires de cet espace.

Le « terroir » inclut des caractéristiques spécifiques du sol, de la topographie, du climat, du paysage et de la biodiversité (OIV, 2010).

Modes de production et systèmes de conduite des vignobles

Les modes de production

Ils représentent différentes méthodes et pratiques de production :

– la viticulture conventionnelle a recours aux engrais et divers produits phytosanitaires de synthèse afin d'assurer techniquement le niveau de rendement optimal. Ces intrants, compte tenu des contraintes économiques et environnementales, mais également de plus en plus sociétales, sont désormais raisonnés, d'où la dénomination d'une viticulture conventionnelle raisonnée ;

– la production intégrée prône l'utilisation de méthodes les plus naturelles possible, avec par exemple des méthodes de confusion sexuelle (utilisant des phéromones) pour éviter le développement des vers de la grappe. L'objectif est de limiter au mieux l'usage des produits phytosanitaires de synthèse ;

– l'agriculture biologique constitue un mode de production soucieux du respect des équilibres naturels. Elle exclut l'usage des produits chimiques de synthèse. Depuis 2012, les viticulteurs peuvent utiliser le terme « vin biologique ». Ce label nécessite de respecter un cahier des charges précis ;

– la viticulture biodynamique se base sur une pensée philosophique inspirée par le philosophe Rudolf Steiner du XIXe siècle, qui considère la terre comme un organisme vivant. Elle utilise notamment des préparations à base de plantes, propose le suivi d'un calendrier lunaire et un cahier des charges plus contraignant que celui de l'agriculture biologique.

L'agroécologie combine les savoirs de l'agronomie avec ceux de l'écologie pour introduire dans l'acte de production les effets positifs des écosystèmes (considérés comme une contrainte dans le système conventionnel classique). La biodiversité est au cœur des concepts et des pratiques, dont celle de l'agroforesterie. L'agroécologie était connue initialement dans les années 1930 puis elle fut oubliée au bénéfice de l'agriculture conventionnelle et de l'usage de l'agrochimie. Récemment, depuis les années 2010, elle s'inscrit comme un moyen d'évolution des systèmes traditionnels de production dans la transition écologique (cf. chapitre 7).

Les choix de ma conversion en bio

Je suis viticulteur en Blaye-Côtes de Bordeaux sur 30 ha à la coopérative de Tutiac et producteur de 4 ha d'asperges sur la commune de Braud-et-Saint-Louis. Installé en 1997, j'ai travaillé au sein du GAEC familial en culture conventionnelle pendant dix ans. À la retraite de mes parents, j'étais le seul arbitre de mes décisions. J'ai commencé dans une démarche raisonnée et, dès 2009, ai décidé de passer à l'étape au-dessus : le bio. J'ai fait ce choix pour préserver ma santé, celle de mes salariés saisonniers et, par extension, la nature et l'environnement. Le fait d'être certifié me permettait de relever certains défis, notamment de produire des raisins de qualité en remplaçant l'emploi de produits chimiques de synthèse par des produits minéraux et naturels, et je voulais également préserver mon terroir et la pérennité de mon vignoble. J'avais le même objectif qu'avant de travailler en bio : garder mon vignoble propre et productif.

J'ai remplacé les herbicides par un système de rotofil équipé d'une tondeuse, et substitué les engrais chimiques par un semis d'engrais vert. Remplacer les traitements chimiques de synthèse par du cuivre et du soufre ne fut pas une étape facile, mais c'était pourtant une des clés principales de la réussite de la protection du vignoble.

Produire bio a eu pour effet que je constate depuis plusieurs années le retour massif de papillons, bourdons, libellules, et que je peux observer de nombreux nids d'oiseaux au cœur des pieds de vigne. Je retrouve un sol vivant, décompacté par les vers de terre revenus en masse depuis l'implantation de mes semis. La météo est aussi un facteur essentiel pour la décision de la protection. J'ai rencontré des difficultés sur la gestion des maladies, le climat très pluvieux de ces derniers printemps m'ayant donné du fil à retordre, ainsi que sur la maîtrise de l'herbe. Suite à des investissements importants au niveau matériel et malgré une main-d'œuvre difficile à trouver, je suis parvenu à y remédier.

Ce qui me préoccupe le plus aujourd'hui, c'est la diminution de la dose de cuivre par hectare, qui est passée de 6 kg/ha/an en lissage sur 5 ans à 4 kg/ha en lissage sur 7 ans : sur mon exploitation, le mildiou demeure la maladie la plus compliquée à combattre et pour le moment, seul le cuivre me permet de le maîtriser. En 2009, qui fut une année à faible pression, 1,2 kg/ha de cuivre métal a été suffisant, mais en 2018, année à forte pluviométrie, j'ai utilisé le maximum autorisé par la réglementation, sous contrôle de l'organisme certificateur Écocert. Ces exemples montrent la nécessité de pouvoir adapter l'utilisation du cuivre en fonction des risques phytosanitaires et non en fonction de la dose homologuée.

Étant la quatrième génération de viticulteurs dans la famille, je m'aperçois que nous revenons aujourd'hui à ce que faisaient nos grands-parents en matière d'agronomie, de travail des sols et d'amendements organiques, mais avec une meilleure gestion de la protection phytosanitaire, notamment à travers les apports de cuivre.

Témoignage de Laurent Mauvillain, viticulteur en mode biologique sur la commune de Braud-et-Saint-Louis, dans l'appellation de Blaye-Côtes de Bordeaux (Gironde).

Les systèmes de conduite du vignoble

Ils intègrent l'ensemble des critères qui déterminent l'architecture du cep et le type de vignoble : la densité et la géométrie de plantation, la hauteur du tronc et la taille de formation, la taille de renouvellement, le mode de palissage, les opérations en vert, le contrôle de la production (éclaircissage). Ces systèmes intègrent désormais l'adaptation à la mécanisation, la protection phytosanitaire et l'adaptation au changement climatique.

Pour certains critères tels que le mode d'implantation des souches et leur forme, ainsi que le type de palissage, le choix initial du viticulteur engage le vignoble pour une longue période. Il est, certes, guidé par le type de qualité et de rendement en production de raisins par hectare, mais également par des conséquences techniques sur la protection phytosanitaire, compte tenu de la masse foliaire et de la répartition des raisins au sein de la végétation. Le viticulteur doit également optimiser ses coûts de production, ce qui induit une adaptation du vignoble à la mécanisation des différents travaux, dont la taille et les vendanges.

Les densités de plantation

Elles sont très variables suivant le type de production : de 2 500 pieds/ha pour des vignes dont les raisins sont destinés à des jus de fruits, voire à des vins utilisés pour la production d'eaux-de-vie (armagnac, cognac et divers brandies), à 10 000 pieds/ha pour des productions de vins d'appellation de haut niveau qualitatif et vins de garde. Ces densités sont obtenues avec des combinaisons d'écartement inter-rangs de 1 à 3 m et d'espacement des ceps sur le rang de 1 à 2 m. En vignes étroites à haute densité, la vigueur des ceps est réduite, les vins sont plus riches en composés phénoliques (anthocyanes, tanins), plus aptes au vieillissement et de qualité plus élevée.

La hauteur des troncs

Elle varie assez fortement suivant les systèmes de conduite, soit en pratique de 40 cm à 1,50 m. L'augmentation de la hauteur permet de réduire les risques de gelée printanière et de contamination par le mildiou, mais à l'inverse durant l'été, elle accroît la sensibilité à la sécheresse car les raisins sont plus éloignés des racines (Reynier, 2016).

Étant à l'origine une liane, la vigne doit être taillée afin de produire plus de fruits que de bois. Une vigne non taillée présente une pousse végétative très importante mais ne fournit que des raisins très petits et acides.

Le système de taille

La taille induit la forme donnée aux ceps, la répartition et la longueur des branches à fruits, appelées baguettes, astes ou lattes lorsque la taille est longue (plusieurs bourgeons), ou coursons, cots, crochets, lorsque la taille ne laisse que 2 ou 3 bourgeons. La répartition des raisins dans le cep est largement corrélée

à la situation sanitaire. En effet, des petites grappes alignées sur une baguette seront moins sensibles aux maladies cryptogamiques et notamment au botrytis, que des grosses grappes insérées dans tout le feuillage.

Le système de taille influence directement la maîtrise de la vigueur de la vigne et par conséquent sa sensibilité aux cryptogames, qui augmente avec la vigueur. Ainsi, suivant les régions viticoles dans le monde, les types de production et les conditions climatiques, on observe l'existence de plusieurs systèmes, dont les plus courants sont :

– le Guyot simple (figure 1.2) constitué par un tronc portant une baguette à plat d'un seul côté avec un courson permettant d'inverser la baguette fructifère l'année suivante : système utilisé en Bourgogne ;

– le Guyot double (figure 1.2) constitué par un tronc portant deux baguettes à plat de part et d'autre, ainsi que deux coursons pour alterner les baguettes l'année suivante : c'est la taille du Bordelais à l'origine, très répandue dans les différentes régions viticoles du sud-ouest de la France, de la Loire, en Champagne, et dans les vignobles du monde. Elle est également pratiquée pour des vignes à très forts rendements (Charentes ou Armagnac pour la production de vins à distillation) avec des baguettes arquées ;

– il existe des variantes de ces tailles en système mixte, par exemple en Guyot Poussard, qui est un système Guyot simple mais à deux bras, dont l'un porte la baguette et un courson de rappel, et l'autre le courson ; et en Guyot mixte avec un bras qui porte une baguette et l'autre bras, un courson. Dans tous les cas, le palissage lié à ces systèmes doit permettre aux produits phytosanitaires de contact de bien pénétrer à l'intérieur pour une bonne répartition de la bouillie de traitement, quelle qu'en soit la formulation, et également laisser passer les rayons de soleil pour optimiser la photosynthèse. Ces deux tailles Guyot nécessitent un palissage des tiges végétatives sur fils de fer (plusieurs niveaux suivant la hauteur du palissage) ;

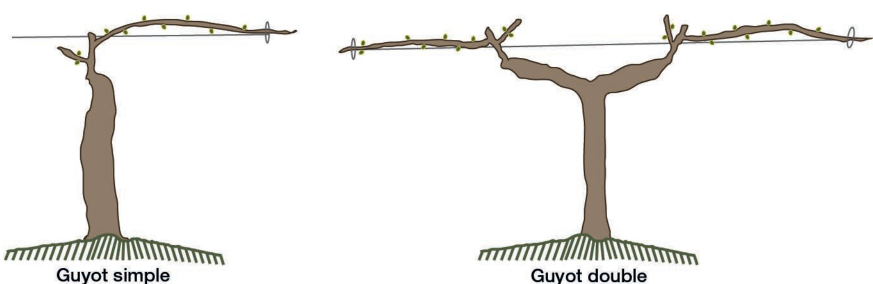


Figure 1.2. Illustration des systèmes de conduite en Guyot (© Macary).

– le cordon de Royat (figure 1.3) qui comprend deux bras opposés au-dessus du cep, lesquels portent des coursons courts. Un palissage sur fil de fer est également nécessaire. C'est l'un des systèmes de taille le mieux adapté à la mécanisation (pré-taille, rognage, écimage, vendange mécanique…). Les raisins sont répartis

au même niveau, ce qui limite notamment les attaques de cryptogames, dont le botrytis, et induit une maturité homogène ;

– le système déployé (Scott-Henry, Smart-Dyson) (figure 1.3) est un mode de conduite originaire de l'Oregon, aux États-Unis, dans les années 1970. Il consiste en une répartition verticale de la végétation, sur une hauteur de 2,10 m environ, la moitié des rameaux étant orientée vers le haut, l'autre moitié vers le bas. Il comprend 4 baguettes attachées sur 2 niveaux de fil porteur, avec tronc haut (1 m et plus). Une adaptation avec 2 baguettes alignées sur un même niveau (système Smart-Dyson) ou en décalage de 20 cm sur la hauteur (système Scott-Henry) a été expérimentée dans les années 2000 dans le vignoble de Gascogne, au sud-ouest de la France, sur cépages merlot et colombard, afin d'augmenter la surface foliaire, pour un objectif de rendement de 90 hl/ha. Ce gain de surface foliaire a permis d'améliorer la qualité des baies par rapport aux taux de sucres sur colombard et en anthocyanes sur merlot. L'état sanitaire est identique aux systèmes traditionnels (Guyot double) (IFV, 2022) ;

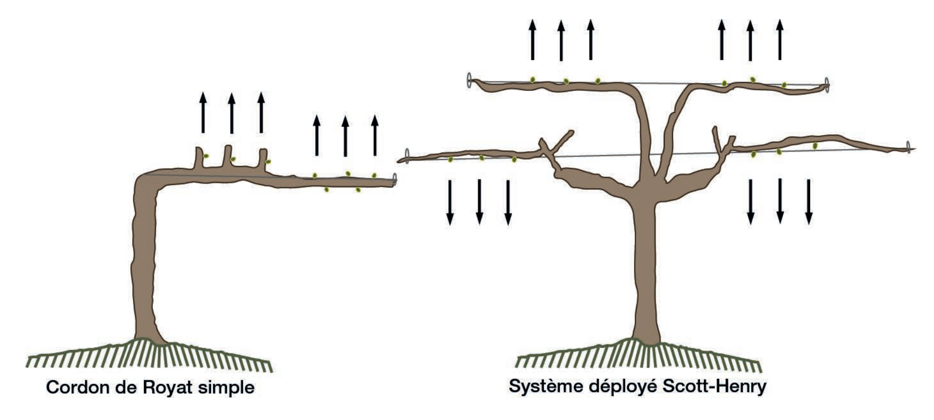


Figure 1.3. Illustration des systèmes en cordon de Royat simple et Scott-Henry (© Macary).

– la taille en lyre (figure 1.4) comporte deux axes de palissage en oblique qui forment une lyre. Les rameaux portent soit des coursons, soit de longs bois, ce qui permet une ouverture du cep, une valeur élevée de l'indice foliaire et une bonne exposition des grappes. En revanche, la mécanisation, dont celle des vendanges, est difficile et quasi-impossible, ce qui limite le recours à cette taille aux régions où le travail manuel demeure majoritaire (Hautes-Côtes de Beaune, Jura…) ;

– introduite et développée par les Romains, la taille courte en gobelet (figure 1.4) est pratiquée sur des vignes basses non palissées, traditionnellement en région méditerranéenne. Elle comprend un tronc et des bras de vieux bois en forme de corne qui portent chacun un ou deux coursons. Ce système est bien adapté aux régions méridionales plus sèches et offre une bonne résistance au vent. Les raisins étant plus proches du sol qu'en taille Guyot, la maturité est plus précoce. En revanche, cette forme de conduite est mal adaptée à la mécanisation (rognage, écimage, vendange…) et surtout la protection phytosanitaire, en particulier la

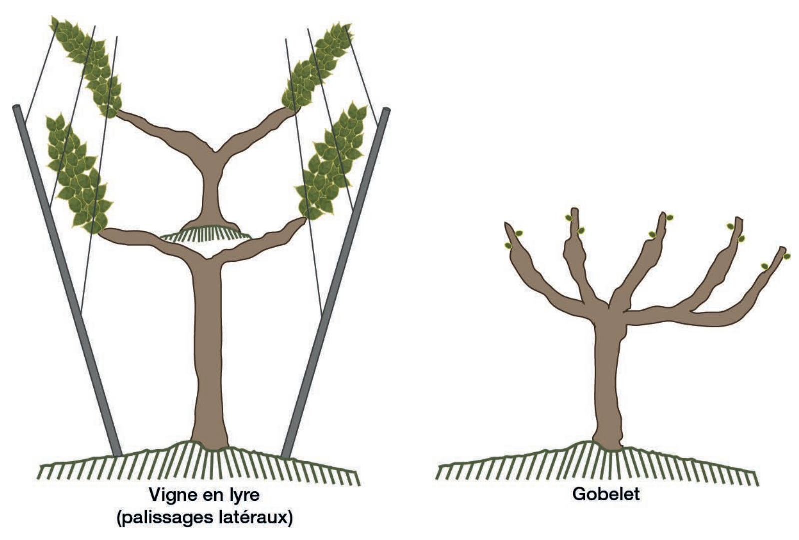


Figure 1.4. Illustration des systèmes en lyre et en gobelet (© Macary).

diffusion des produits au cœur de la végétation, y est plus complexe, alors que ces régions ventées sont particulièrement sensibles à l'oïdium ;
– le système en pergola est surtout développé pour la production de raisins de table, notamment en Italie, en Grèce, au Portugal (Gily, 2006). Il est constitué de ceps de vigne qui montent, suivant le type de support utilisé, à 2 ou 3 m de haut. La végétation se développe sur un palissage horizontal et les grappes de raisin pendent vers le bas du treillage, ce qui permet une parfaite maturation tout en évitant les excès de soleil, ainsi qu'une bonne aération du feuillage et des grappes, propre à réduire la contamination fongique. De plus, la hauteur du système permet de produire d'autres cultures au niveau du sol, voire d'envisager le pâturage du bétail.

Le palissage

Le palissage (figures 1.2) consiste à maintenir la végétation sur un axe vertical et à favoriser une exposition maximale des surfaces foliaires au soleil afin d'optimiser la photosynthèse et la qualité organoleptique des raisins. Le principe consiste à disposer trois fils de fer accrochés sur des poteaux en bois (échalas) ou en fer. Le plus souvent, les viticulteurs ajoutent également deux fils de fer mobiles de chaque côté afin de les déplacer vers le haut au fur et à mesure de la pousse végétative. La hauteur du palissage (Hp) est adaptée à la densité des ceps de façon à obtenir une masse foliaire suffisante pour la production de raisins de qualité (sa hauteur optimale est de 0,7 à 0,8 fois l'écartement). Ainsi pour des vignes avec un inter-rang de 2 m, Hp est d'environ 1,50 m. Pour des vignes espacées de 3 m, la hauteur de palissage optimale serait d'environ 2,20 m, ce qui concrètement est plus difficile à mettre en œuvre et pose des problèmes de mécanisation et, selon le type de matériel, de protection phytosanitaire (figure 1.5).



Figure 1.5. Système de palissage traditionnel pour vignes étroites et larges en Guyot (© Macary).

Les usages de la protection phytosanitaire

Les pratiques de protection contre les maladies du feuillage et des grappes

Mildiou et oïdium, ces maladies fongiques sont les deux maladies des organes herbacés les plus redoutées car lorsqu'elles sont fortement répandues dans un vignoble, il est très difficile de les maîtriser. Cela est d'autant plus marqué lorsque les conditions météorologiques (pluie, vent), tout en étant généralement favorables à l'expansion de la maladie, empêchent d'effectuer les traitements chimiques. Tous les organes herbacés, des feuilles aux grappes, peuvent être contaminés. Les pertes de récolte sont alors considérables, à la fois sur le plan quantitatif et sur le plan qualitatif, car les raisins contaminés présentent une odeur de moisissure et engendrent des mauvais goûts dans les vins. À l'extrême, ces pertes peuvent être totales.

La lutte contre ces maladies associe des mesures prophylactiques et des traitements chimiques de nature organique et inorganique (cuivre, soufre).

Prophylaxie

Contre le mildiou, il est nécessaire d'éviter toute stagnation d'eau au sol, d'où le drainage lorsque cela est nécessaire. Sont aussi pratiqués l'enherbement des rangs, l'épamprage pour éviter la présence de feuillage le long des ceps, qui favoriserait le

transfert du mycélium vers le feuillage supérieur, l'effeuillage pour aération, ainsi qu'une fertilisation raisonnée, notamment en azote, pour maîtriser la vigueur de la vigne, sous influence du porte-greffe.

Contre l'oïdium : l'ébourgeonnage afin d'éviter de stocker du mycélium dans les organes de base, l'effeuillage et également le contrôle de la vigueur des plantes.

Les contaminations de black-rot demeurent assez localisées étant donné que les spores émises sont des germes de multiplication *in situ.* Elles se produisent par poussées brusques et rapides (Reynier, 2016). Elles nécessitent plus d'humidité que le mildiou, ce qui explique que ce champignon est surtout présent dans les régions pluvieuses et chaudes. La lutte contre le black-rot s'effectue par des mesures prophylactiques : suppression des vignes abandonnées, élimination de l'inoculum en hiver de préférence par brûlage des rameaux atteints et au printemps en éliminant les premiers foyers sur feuille par les traitements fongiques dont certains ont une action préventive seule et d'autres également une action curative.

Traitements chimiques

À la fin du XIXe siècle (à partir de 1882), Alexis Millardet, professeur de botanique et ampélographe à la faculté des sciences de Bordeaux, ainsi qu'Ulysse Gayon, professeur de chimie en cette même faculté, découvrent l'efficacité contre le mildiou d'un mélange de sulfate de cuivre et de chaux badigeonné sur de la vigne le long des routes du Médoc pour éviter que les promeneurs ne cueillent des grappes de raisins. Après plusieurs expérimentations, ils confirment que le cuivre empêche le développement des oospores du mildiou. Ce mélange optimisé est alors nommé « bouillie bordelaise » et utilisé en préventif contre le mildiou de la vigne ainsi que sur des vergers, sur les plantes maraîchères et autres maladies telles que le black-rot (Pelsy et Merdinoglu, 2021). Cette découverte est également faite par les Bourguignons à la même époque.

Par la suite, des solutions d'oxychlorures de cuivre, d'hydroxyde de cuivre et d'oxydes cuivreux ont été formulées. Il a cependant été montré qu'il y avait peu de différences de lessivage entre les différentes formulations. Le choix d'utiliser une forme ou une autre peut donc être lié à sa facilité d'utilisation, à son prix et à sa phytotoxicité (Vinopôle Bordeaux-Aquitaine, 2022).

Les sels de cuivre sont toujours utilisés actuellement, notamment en début et fin de végétation, aussi bien par les viticulteurs en mode conventionnel et que par les viticulteurs en mode biologique, car il n'existe pas d'autre fongicide d'origine naturelle pour lutter contre le mildiou.

Aujourd'hui, l'usage du cuivre fait débat en raison de son écotoxicité dans les sols, notamment sur la microfaune et les vers de terre, compte tenu surtout d'une forte accumulation depuis plus d'un siècle (Anatole-Monnier, 2014). L'Union européenne a établi une dérogation de son usage jusqu'en 2025 à la dose maximale de 4 kg cuivre/ha/an en moyenne, lissée sur 7 ans. Au début du XXe siècle, la dose utilisée était de 50 kg/ha !

Contre l'oïdium, le soufre est utilisé soit en poudre mouillable associée au traitement anti-mildiou, soit, à la période de la floraison, en poudrage directement sur le feuillage et les inflorescences, pour renforcer son action.

Cuivre et soufre agissent par contact à la surface des plantes, ce qui nécessite une fréquence d'application régulière.

Le cuivre étant un produit uniquement préventif, la vigne doit être protégée avant une contamination. En absence de pluie, selon la pousse, les traitements sont ainsi renouvelés tous les 8 à 10 jours. Ils doivent en revanche être renouvelés après chaque cumul de pluie de 20 mm, 30 à 40 % du cuivre étant lessivé après une telle quantité d'eau, quelle que soit la formulation (Vinopôle Bordeaux-Aquitaine, 2022).

À partir des années 1950, l'industrie chimique a développé des fongicides organiques de synthèse. Certains agissent également par contact, comme les fongicides inorganiques. Puis la chimie a produit des matières actives dites pénétrantes et d'autres systémiques : les premières ont une action au niveau de la zone contaminée du végétal, alors que les secondes se diffusent dans toute la plante grâce à la sève et protègent alors les jeunes pousses durant deux semaines.

Le mildiou et l'oïdium ont la capacité de développer des mécanismes de résistance face à certaines molécules, ce qui conduit les viticulteurs à inclure dans leurs programmes de traitement des produits fongiques présentant des modes d'action différents.

La pourriture grise est également très difficile à combattre lorsqu'elle est bien installée. Le champignon *Botrytis cinerea* s'adapte facilement aux molécules et devient alors résistant.

À l'automne, sur certains cépages tels que le sémillon dans la région de Sauternes en Bordelais, voire le tokaj de Hongrie et diverses productions très locales, la pourriture grise laisse place à la pourriture noble, ce qui permet de produire des vins blancs liquoreux en vendange très tardive : le champignon se développe en cette saison de façon extrêmement localisée sur les baies de quelques raisins blancs (des essais ont été infructueux sur les cépages rouges) et se nourrit de sucres très concentrés et d'acide tartrique. L'eau peut alors s'échapper des baies, ce qui accentue ce processus de concentration des sucres et produit des « raisins botrytisés ». Des travaux récents ont en effet montré qu'il n'existe pas de différence génétique entre les souches responsables de la pourriture grise et de la pourriture noble (Pelsy et Merdinoglu, 2021). Seuls certains cépages blancs, dans des conditions environnementales spécifiques, permettent le développement de la pourriture noble.

Les cépages dont les grappes sont moins compactes sont plus résistants au botrytis. En prévention, il importe par conséquent de maîtriser la vigueur et maintenir une végétation aérée pour limiter l'humidité. De même, il convient d'éviter que le sol soit gorgé d'eau et de favoriser l'enherbement. La protection contre les insectes piqueurs (vers de la grappe) permet également de limiter les voies d'entrée du champignon dans les baies.

Contre les maladies du bois

Il n'existe pas de spécialité chimique aujourd'hui contre ces maladies. L'arsénite de sodium, utilisé contre l'esca jusqu'à la fin des années 1990, a été interdit du fait de sa forte toxicité pour les humains.

En lutte biologique, deux produits à base de *Trichoderma* sont homologués pour la protection de plaies de taille.

En prophylaxie, il importe de maîtriser la vigueur de la vigne, particulièrement les premières années : effectuer une taille tardive au moment de la montée de sève pour en maîtriser le flux, retirer les souches et parties de ceps morts de la parcelle.

Contre les principaux ravageurs

La viticulture conventionnelle utilise des intrants chimiques de synthèse dont les insecticides et acaricides en protection des papillons *Eudémis* et *Cochylis*, qui génèrent les vers de la grappe. Des insecticides sont également épandus dans les vignobles atteints par la flavescence dorée pour lutter contre la cicadelle *Scaphoïdeus titanus*, vectrice du virus et aussi plus récemment contre la drosophile *Suzukii*.

En production intégrée, en agrobiologie, les méthodes de confusion sexuelle permettent de s'affranchir des insecticides de synthèse, mais les insecticides (non sélectifs) à base de pyrèthre contre la cicadelle dorée demeurent obligatoires dans les secteurs concernés.

Technologies de pulvérisation

Quelle que soit la nature de la protection phytosanitaire, qu'il s'agisse de produits organiques de synthèse ou de produits inorganiques tels que le cuivre, le soufre… voire alternatifs, trois grands types de pulvérisation peuvent être retenus (IFV, 2014).

La pulvérisation à pression de liquide (jet porté ou jet projeté)

Le liquide est sous pression et la fragmentation de la bouillie intervient lors du passage du liquide au travers de buses. Il s'agit du mode de pulvérisation le plus répandu au sein des pays de l'Union européenne. De nombreux modèles de buses existent, qui génèrent des gouttelettes dont les dimensions peuvent être très différentes. La principale mesure de réduction de la dérive consiste à utiliser des buses dites « antidérive », dont les différents types sont notamment adaptés aux exigences réglementaires relatives aux distances de zones non agricoles (ZNA : espaces verts, parcs et jardins, jardins amateurs, collectivités…).

La pulvérisation pneumatique

Les gouttelettes sont générées par un flux d'air à grande vitesse qui vient éclater une veine de liquide. Les pulvérisateurs pneumatiques sont utilisés principalement dans le sud de l'Europe. Avec les technologies pneumatiques disponibles aujourd'hui, il est en pratique difficile de changer la taille des gouttelettes. Des gouttes plus grosses seront générées si la vitesse de l'air est réduite. D'autre part,

la vitesse et le volume d'air sont importants pour transporter les gouttelettes sur la cible et fournir l'énergie nécessaire pour pénétrer le couvert végétal.

La pulvérisation centrifuge à disque rotatif

Les gouttelettes sont produites par la force centrifuge sur un disque en rotation (à l'image d'un épandeur d'engrais). Cette pulvérisation est employée seulement pour l'application des herbicides de post-levée, et demeure inadaptée pour la protection du vignoble. Les pulvérisateurs centrifuges sont d'ailleurs très peu utilisés en Europe. La taille des gouttelettes varie suivant la vitesse de rotation du disque.

Critères de choix du pulvérisateur

Le choix du pulvérisateur doit répondre d'une part à l'efficacité de la protection du vignoble et d'autre part à la réduction du risque pour l'environnement. Outre la technologie de pulvérisation, la configuration du matériel représente un facteur de choix important (IFV, 2007). Celle-ci caractérise l'emplacement des diffuseurs par rapport à la végétation de la vigne, ce qui induit plusieurs types de traitement :
– le traitement uniface ou multiface sur plusieurs rangs par des canons oscillants et des triturbines : de conception ancienne, ces pulvérisateurs traitent plusieurs rangs à la fois au-dessus de la végétation. Ils sont très sensibles au vent et génèrent une dérive conséquente. De plus, la bouillie n'est pas répartie de manière homogène suivant les rangs et niveaux de la végétation. Dans cette catégorie figurent en traitement uniface les canons pneumatiques oscillants et les turbines oscillantes, et dans le cas de plusieurs faces traitées, les voûtes pneumatiques multi-sorties pour les vignes larges, voire équipées de tubulures de sorties allongées en vigne étroites. Ces matériels sont à proscrire du fait de la contamination importante des écosystèmes et, en outre, de la mauvaise répartition de la bouillie sur la végétation ;
– le traitement par voûte pneumatique à deux mains et canons : surtout utilisé en vignes larges, ce pulvérisateur passe tous les deux ou trois inter-rangs avec une projection de bouillie sur la végétation *via* un système pneumatique. La pulvérisation est assez hétérogène sur le feuillage, ce qui rend très aléatoire les réductions de doses envisageables. Ce type de matériel n'est pas recommandé car il est inadapté aux démarches de réduction de la pression phytosanitaire, quelles qu'elles soient, et surtout, le niveau de dérive peut-être très important ;
– le traitement face par face : ces pulvérisateurs ont été conçus pour mieux respecter l'environnement, tout en assurant une meilleure répartition de la bouillie sur le feuillage. Plusieurs configurations existent, tant en vigne large qu'étroite. Les matériels avec des diffuseurs situés dans l'interligne sont les plus recommandés. Ils regroupent les systèmes à jets projetés, fixés sur une baguette interligne, qui permettent un réglage de la dimension des gouttes et présentent une bonne répartition du produit sur le feuillage, ainsi qu'une réduction des doses utilisées. Dans les pulvérisateurs à jet projeté, la bouillie est mise sous pression par une pompe et les fines gouttelettes sont obtenues par détente du liquide dans des buses à turbulence produisant un jet conique creux. Les pulvérisateurs pneumatiques face par face à jet porté présentent un spectre de gouttes peu variables et

entraînent un taux de dérive nettement supérieur aux systèmes précédents. Dans ce cas, où la pulvérisation de la bouillie est également obtenue par un système à pression, les buses sont disposées dans un flux d'air fourni par un ventilateur, qui porte le produit vers la végétation (IFV, 2007) ;
– afin d'éviter les pertes de produits au niveau du sol et par voie aérienne, des pulvérisateurs à récupération de bouillie ont été développés avec des systèmes de panneaux à jet porté qui offrent un taux de récupération de bouillie d'environ 30 à 40 % (IFV, 2007). La technologie à jet projeté est déconseillée car l'absence d'assistance d'air ne permet pas une bonne pénétration dans le feuillage. De même, dans la technologie pneumatique, la finesse des gouttelettes ne facilite pas une bonne récupération par les panneaux. Toutefois, la dimension et le poids importants des pulvérisateurs à panneaux récupérateurs ne permettent pas leur usage dans tous les contextes, notamment en vignes étroites à fortes pentes. Par ailleurs, leur coût réserve ces appareils pour les exploitations viticoles possédant une surface importante.

Gestion de l'enherbement

L'enherbement d'un vignoble a pour avantage d'améliorer la structure du sol et de favoriser le développement de la vie du sol. Il permet de réduire l'érosion et augmente la portance. Il joue également un rôle dans la maîtrise de la vigueur de la vigne, par concurrence dans l'alimentation hydrique et minérale. Mais il peut parfois conduire à une concurrence trop forte. Différents modes de gestion sont adoptés en fonction des contextes pédoclimatiques, très variables selon les régions viticoles.

La tendance, du moins en Europe occidentale est d'enherber l'inter-rang soit en totalité, soit un rang sur deux, suivant le niveau de concurrence hydrique et azotée acceptable, avec de la prairie naturelle ou des semis d'espèces de graminées (ray-grass, fétuque…) et légumineuses (fèverole, trèfle blanc…). Le cavaillon (espace situé sur le rang) est soit travaillé, soit enherbé et tondu en agrobiologie.

En revanche, il est encore souvent désherbé chimiquement en mode conventionnel, notamment avec du glyphosate. Les transferts de cet herbicide vers les eaux de surface sont régulièrement mis en évidence dans les études de qualité des eaux des cours d'eau voisins. La facilité et rapidité du désherbage chimique, ainsi que son coût inférieur à celui d'une pratique mécanique, freinent encore bon nombre de viticulteurs. Toutefois, les perspectives d'interdiction du glyphosate toujours en débat, les prises de position de l'opinion publique relayées par les médias, et la mise au point d'outils performants de désherbage mécanique, tendent à infléchir cette orientation technique.

Aversion aux risques phytosanitaires et modes de décision pour la protection phytosanitaire

De façon générale, la définition du risque est assez fréquente dans la littérature : « Un risque est la probabilité d'occurrence d'un effet nocif résultant de l'exposition d'une entité (hommes, population, écosystème) à un danger qui peut être

un agent physique, chimique ou une action quelconque » (Calvet, 2003). Le risque résulte du croisement entre un phénomène aléatoire et la vulnérabilité d'un élément considéré, face à un enjeu.

Compte tenu de la forte sensibilité de la vigne aux maladies cryptogamiques, notamment le mildiou et l'oïdium, les viticulteurs présentent une forte aversion aux risques phytosanitaires, tellement les conséquences quantitatives et qualitatives sur la récolte des raisins peuvent être redoutables, ainsi, par voie de conséquence, que les résultats économiques. Cette aversion au risque par rapport au revenu espéré décroît dans toutes les appellations de vins en France, excepté pour le champagne où le processus serait inverse, c'est-à-dire que l'aversion serait d'autant plus élevée que les revenus espérés sont élevés d'après une étude récente (Aka *et al.*, 2018).

Dans le cadre du projet de recherche PhytoCOTE en Bordelais (2015-2019) (Macary *et al.*, 2016) (cf. p. 43), les usages des pesticides en viticulture, leurs impacts sur les écosystèmes connexes, et les effets d'un changement de pratiques viticoles ont fait l'objet d'une étude globale. Des enquêtes auprès d'une quarantaine de viticulteurs ont été réalisées pour connaître leurs pratiques et leurs critères de décision, notamment en matière de protection phytosanitaire de la vigne. L'appellation Blaye-Côtes de Bordeaux se situe dans un segment de gamme moyenne des vins et les viticulteurs dont les marges économiques sont étroites ont une forte aversion au risque de perte de récolte. Une large majorité d'entre eux indiquent que la prise de risque acceptable sur la protection phytosanitaire ne peut dépasser 5 % de pertes. Ceci est à moduler suivant la taille de l'exploitation viticole. En effet, lorsque les surfaces en vigne sont importantes (50 ha et plus), le temps nécessaire à la couverture de la protection augmente et nécessite, pour compenser, la mise en œuvre simultanée de plusieurs appareils de traitement. Lorsque le risque phytosanitaire est important, les rotations des pulvérisateurs sur les parcelles sont quasi permanentes afin de couvrir toute la surface correctement ; de ce fait, la prise de risque est pratiquement nulle.

Ainsi, la crainte éprouvée par les viticulteurs d'une perte significative de rendement les enferme dans une situation d'immobilisme quant à la diminution de l'usage des pesticides et à l'adoption de solutions alternatives, et ce malgré le dynamisme des conseillers viticoles de terrain. La demande croissante des consommateurs pour une réduction drastique des traitements chimiques pourrait toutefois devenir une composante à privilégier dans les choix des viticulteurs, sous réserve que cette prise de risque puisse s'accompagner d'une valorisation économique de la production.

Les viticulteurs déclenchent les traitements en fonction d'un certain nombre de critères de décisions parmi lesquels les plus importants sont les conditions météorologiques, les observations de bioagresseurs *in situ,* les avertissements agricoles notamment émis en France dans le *Bulletin de santé du végétal*. Ces derniers sont établis par appellation à partir des résultats de modèles épidémiologiques et d'observations de terrain, qui émanent de la filière viticole, ainsi que des préconisations locales des conseillers viticoles. Les outils d'aide à la décision sont également très utiles. Chacun décide de la hiérarchie de ces critères dans l'acte

de décision et du niveau de raisonnement dans ses traitements compte tenu de ses connaissances et compétences, de l'aversion au risque liée aux craintes économiques et organisationnelles (taille de l'exploitation), de sa propre sensibilité au respect des écosystèmes et des humains.

Les risques agroenvironnementaux

En France métropolitaine, la présence des pesticides est généralisée dans les eaux de surface (dans 91 % des points de mesure) et dans les eaux souterraines (pour 55 % des points) sur l'ensemble du territoire (CGDD, 2017). Dans le concept de risque pour la ressource appliqué à l'agroenvironnement, l'un des enjeux peut être la qualité des eaux de surface ou souterraines, en vue de leur usage prioritaire pour l'alimentation humaine et animale, indépendamment d'autres utilisations, telles les activités de loisirs : baignade, pêche…

Plusieurs ouvrages du Corpen (Comité d'orientation pour des pratiques respectueuses de l'environnement) font référence en matière d'usage et de risques de transferts des produits phytosanitaires (notamment Corpen, 2003). Ces travaux ont permis d'arrêter une terminologie spécifique à la question des risques agroenvironnementaux (AE). Elle concerne notamment les effets des pratiques agricoles sur la qualité des eaux. Ainsi, un *potentiel de contamination* permet d'estimer la possibilité d'altération des usages. Ce potentiel dépend de la conjonction entre, d'une part, la vulnérabilité intrinsèque d'un milieu (c'est-à-dire la possibilité de ce milieu d'être atteint par des polluants, sans préjuger de l'intensité de cette altération) et, d'autre part, la pression exercée par des activités anthropiques sur le milieu, dont les pratiques agricoles (excédents azotés, produits phytosanitaires…). Les enjeux environnementaux retenus dans notre champ de recherche concernent la ressource en eau d'un point de vue qualitatif. La confrontation entre le potentiel de contamination et ces enjeux environnementaux constitue *le risque de contamination* des eaux (figure 1.6).

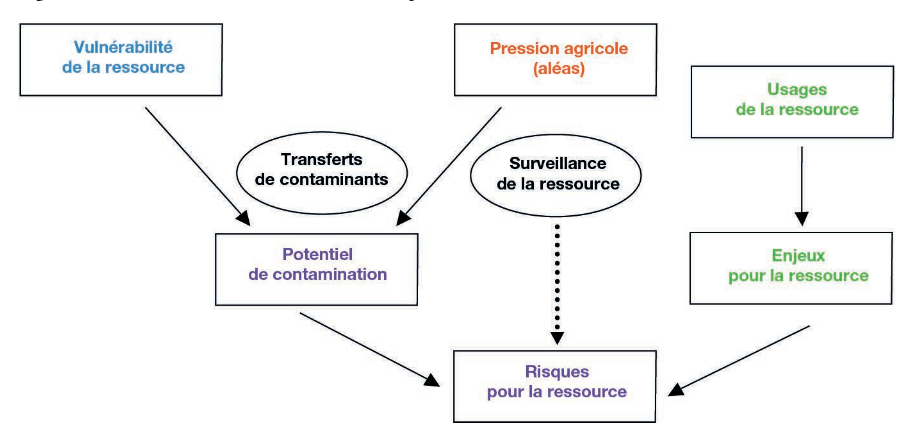


Figure 1.6. Modèle conceptuel d'évaluation des risques agroenvironnementaux pour la ressource en eau (Macary, 2013), d'après Corpen (2003).

Voies de transfert vers les écosystèmes et risques de contamination

L'origine de la contamination des écosystèmes par les pesticides est majoritairement liée aux activités humaines sur le continent et, pour l'essentiel, aux activités agricoles.

Les transferts des produits phytosanitaires d'origine agricole sur les bassins-versants, depuis les parcelles d'épandage vers les cours d'eau, sont connus (van der Werf, 1996 ; Voltz et Louchart, 2001 ; Calvet, 2002). Il existe en effet de nombreuses voies de transfert des pesticides depuis leurs sites d'application vers les réseaux hydrographiques (figure 1.7). Parmi les plus importantes : le ruissellement de surface et de subsurface ; l'infiltration, dont l'importance reste étroitement liée aux conditions météorologiques et de saturation des sols ainsi qu'à leur texture et à la nature plus ou moins imperméable du substrat en sous-sol. Les molécules hydrophobes adsorbées[6] sur les matières organiques ou minérales sont lessivées, ou lixiviées, puis entraînées par l'eau du sol vers la nappe phréatique, voire les drains de parcelles. Les molécules hydrophiles solubilisées dans l'eau sont directement entraînées à travers le sol. Lors de leur utilisation, notamment au moment de l'épandage, la perte de produit dans les réseaux hydrographiques et les eaux souterraines peut ainsi être responsable d'une contamination diffuse observée à l'échelle du territoire et qui s'étend jusque dans la mer. C'est particulièrement le cas au niveau des bassins-versants exoréiques[7]. On parle ainsi de continuum terre-mer pour ce qui concerne la contamination chimique du milieu marin. La notion de pollution intervient suivant la nature chimique des éléments contaminants et leur concentration dans les milieux aquatiques.

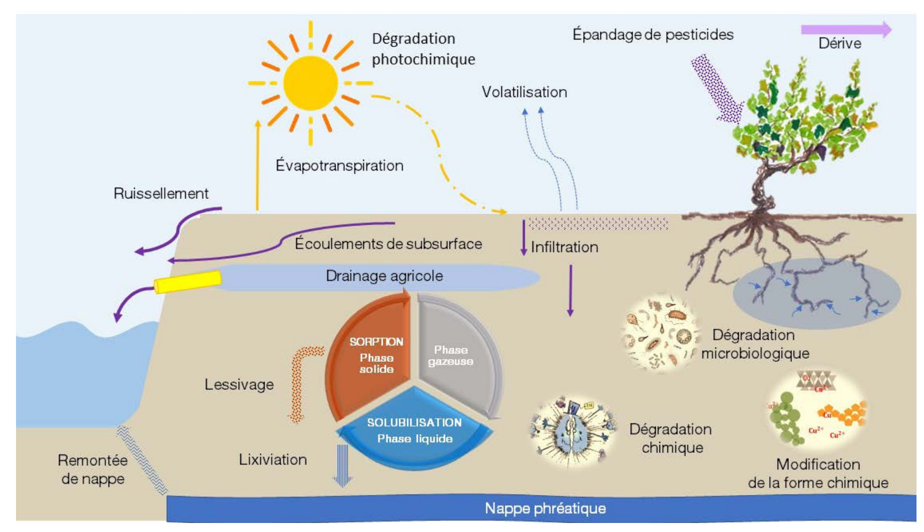


Figure 1.7. Différents processus de transfert des pesticides vers les eaux de surface et souterraines (modifié, d'après Pierdet, 2020).

6. Adsorption : processus physique ou chimique qui fixe des molécules à la surface d'un solide. Absorption : phénomène de remplissage d'un corps par un autre.

7. Bassins-versants exoréiques : le ruissellement des eaux se jette en mer ou dans l'océan.

La dérive de pulvérisation, définie par la norme ISO 2286, est « la quantité de pesticides qui est transportée hors de la zone de pulvérisation (zone non traitée) par l'action des courants d'air pendant le processus d'application ». Elle est associée d'une part aux conditions météorologiques, au type de traitement, au stade végétatif, et d'autre part au type de matériel utilisé.

Les conditions météorologiques représentent les principaux facteurs influençant la dérive, notamment la vitesse du vent, sa direction, l'humidité de l'air et la température. La réglementation européenne précise des valeurs maximales de pratique, par exemple la vitesse du vent pour effectuer les traitements (en France 19 km/h). Cette vitesse influence le transport des gouttelettes de bouillie, transportées hors de la zone de traitement ; sa direction indique celle du nuage de pulvérisation. Une humidité faible de l'air ambiant favorise l'évaporation de l'eau des gouttelettes de pulvérisation ; cela augmente alors la quantité de petites gouttes.

Une température de l'air trop élevée tend à retarder le dépôt des gouttelettes, et le nuage de pulvérisation est alors exposé plus longtemps à l'effet du vent (IFV, 2014).

Le stade végétatif présente une influence sur le risque de dérive, notamment lors des premiers de traitements de saison, lorsque la végétation est encore en phase de développement et de croissance. Il importe alors que le pulvérisateur soit bien réglé pour que seules les buses ciblant la végétation du moment soient actives. De plus, le type de pulvérisateur, comme indiqué ci-après, joue un rôle majeur.

Un exemple d'évaluation des risques agroenvironnementaux dans une région viticole

Le projet PhytoCOTE (Macary *et al.,* 2016) a été mis en œuvre dans le Bordelais (2015-2019) afin d'évaluer les usages des pesticides en viticulture, leurs impacts écotoxicologiques sur les écosystèmes, les effets d'un changement de pratiques, notamment dans le cadre de la transition agroécologique (figure 1.8). Ce projet est pluridisciplinaire : agronomie, agroécologie, hydrobiologie, chimie environnementale, écotoxicologie, économie. Ainsi, les études portaient sur l'usage des produits phytosanitaires dans les agrosystèmes viticoles, leurs transferts dans les écosystèmes connexes (eau, sol, essentiellement) (axe 1), leur bioaccumulation et leur potentiel toxique chez les organismes aquatiques (axe 2). Le site d'étude était constitué par la région viticole du Blayais, située sur la rive droite de l'estuaire de la Gironde, au nord de Bordeaux. Il comprend un bassin-versant expérimental (BVE) de près de 8,5 km^2 à Marcillac, dont une zone d'exploitation viticole de 4,4 km^2 (70 % de la SAU totale du BVE). Le BVE inclut également des entreprises de vinification dont une cave coopérative conséquente (les Vignerons de Tutiac : 500 adhérents, 250 000 hl produits par an) et des chais particuliers, ainsi qu'une entreprise de distillation des résidus de vinification, et leurs stations de traitement des effluents, sur le même emplacement que la station de traitement des eaux usées de la commune de Marcillac (Val-de-Livenne).

Ce site d'étude a permis d'effectuer des enquêtes exhaustives auprès de tous les viticulteurs du secteur et de mesurer les impacts écotoxicologiques dans les cours d'eau et sur des parcelles de vigne en ce qui concerne les teneurs en cuivre.

Au cours de ces enquêtes, 65 substances actives phytosanitaires ont pu être mises en évidence (cf. chapitre 7).

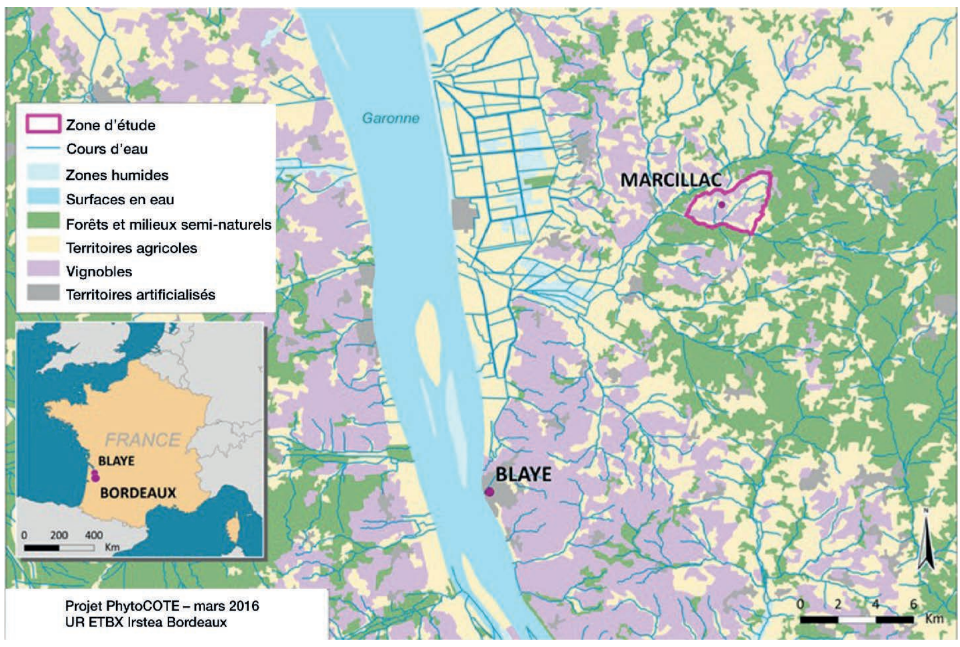


Figure 1.8. Localisation de la zone d'étude du projet PhytoCOTE dans le Bordelais.
Source : © Corine Land Cover, BD Geofla (IGN), BD Topo (IGN).

Une analyse de la cartographie des risques, modélisés à partir des modes de conduite viticole (système conventionnel, agrobiologie, agroécologie…) et du comportement décisionnel des agriculteurs face aux choix des méthodes de protection phytosanitaire, a été réalisée et comparée aux impacts des pesticides sur les écosystèmes. Elle a permis d'établir des scénarios de changements de pratiques et de modes de conduite. Le but *in fine* était de proposer aux viticulteurs des mesures concrètes pour une réduction des usages de ces produits phytosanitaires, grâce à des pratiques de nature agroécologique, et d'analyser comment ces mesures pourraient être influencées par les politiques publiques (cf. chapitre 7).

L'évaluation de la contribution de chaque parcelle viticole au risque de contamination des eaux de surface, appliquée au bassin-versant expérimental (BVE) de Marcillac, a été mise en œuvre par une méthode d'analyse multicritère Électre Tri-C (Macary *et al.*, 2014) couplée à un système d'information géographique (SIG) afin de pouvoir traiter l'information spatialisée, et de restituer les niveaux de risque pour chaque parcelle *via* une cartographie spécifique. L'objectif de la méthode est d'affecter chacune des parcelles du BVE dans l'une des cinq catégories

de risque prédéfinies suivant des valeurs de référence indiquées pour chaque critère. Les préférences vis-à-vis d'une alternative (ici une parcelle agricole) par rapport à celle représentative de chaque catégorie de risque sont déterminées par des relations de surclassement deux à deux. Seuls six critères indépendants les uns des autres, permettant de discriminer les parcelles les unes des autres, et pour lesquels les données de base sont récupérables, sont conservés, le but étant bien de différencier et trier les parcelles suivant des catégories prédéfinies de niveaux de risque. Ces critères sont :
– la microtopographie de chaque parcelle, appréciée par la pente moyenne ;
– la pédologie, qui induit la sensibilité du sol au ruissellement ;
– la connexion hydrologique de la parcelle au cours d'eau, appréciée suivant différents types de connexion :
- parcelle le long du cours d'eau,
- talus peu large et pentu en bord de cours d'eau,
- connexion par un fossé, voire un talweg,
- chemin, route,
- espace tampon (prairie naturelle, forêt),
- parcelle non connectée avec le cours d'eau ;

– les zones tampons, qui favorisent la rétention des particules et facilitent l'infiltration suivant deux facteurs d'évaluation :
- largeur (moins de 3 m à plus de 9 m),
- qualité (densité de l'herbe, entretien) ;

– le mode de conduite de la parcelle, suivant quatre pratiques agricoles recensées :
- orientation des rangs de vigne en fonction de la pente,
- enherbement de l'inter-rang,
- enherbement du cavaillon,
- travail du sol de l'inter-rang ;

– la pression phytosanitaire définie en France par l'IFT, indice de fréquence de traitement (MAP, 2008), calculée selon la formule suivante :

$$\text{IFT} = \frac{\text{dose appliquée x surface traitée}}{\text{dose homologuée x surface de la parcelle}}$$

La figure 1.9 présente une synthèse de ces critères.

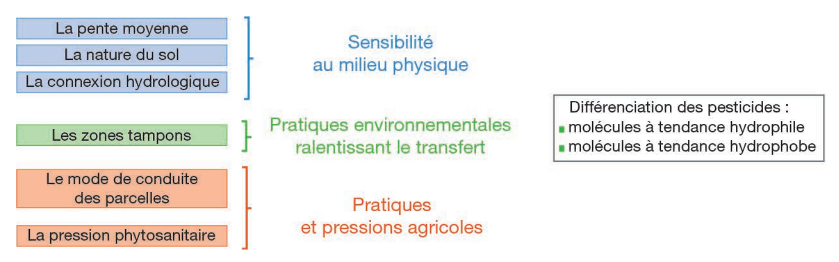


Figure 1.9. Critères retenus dans l'analyse multicritère pour évaluer la contribution de chaque parcelle viticole au risque de contamination des eaux de surface.

Les différents critères sont pondérés (tableau 1.8) en utilisant la méthode SRF[8] (Figueira et Roy, 2002) à partir d'analyses d'experts.

Tableau 1.8. Pondération des critères suivant la nature des molécules.

Critères	Poids des critères (%) Molécules à tendance hydrophile	Poids des critères (%) Molécules à tendance hydrophobe
Pente moyenne	18	14
Type de sol	7	22
Connexion hydrologique	22	7
Zone tampon	10	10
Mode de conduite	13	19
Pression phytosanitaire	30	28

Les résultats issus de la modélisation multicritère couplée au SIG sont présentés sous forme cartographique, avec une série de cartes de risques suivant la nature hydrophile ou hydrophobe des molécules et suivant le mode d'enherbement, et avec une simulation de réduction significative de la pression phytosanitaire.

La figure 1.10 illustre ici ces résultats par la carte des risques de transfert des molécules à tendance hydrophobe. Pour ce profil de molécules plus fortement adsorbées sur les matières en suspension, la nature des sols renforce les processus d'érosion et leur transfert : 22 % de la surface agricole sont ici classés en risques forts et très forts (C1 et C2). L'IFT est élevé et les pentes des terrains y sont fortes avec des connexions hydrologiques importantes. Le risque très faible à nul ne concerne que les parcelles non traitées (prairies en bord de cours d'eau, cultures annuelles diverses).

Plusieurs simulations avec des changements de pratiques ont été faites, notamment sur la réduction de l'IFT. Cela permet de voir l'impact immédiat sur la réduction du risque fort à très fort au niveau du BVE, qui passe de 22 % de la surface à 9 %. Cela tient de façon logique au niveau élevé de la pondération (28 à 30 % de l'ensemble des critères).

Cette méthode d'aide à la décision est applicable à différentes conditions géographiques et différentes échelles spatiales. Elle a été mobilisée sur plusieurs bassins-versants en France, mais de la même façon, elle pourrait être développée et adaptée à des contextes très différents dans de nombreux pays. La représentation cartographique des résultats est ludique pour les professionnels et la méthodologie est facilement assimilée, ce qui en fait un outil efficace d'aide à la décision en matière de proposition de changement de pratiques.

8. Méthode SRF : Simos-Roy-Figueira.

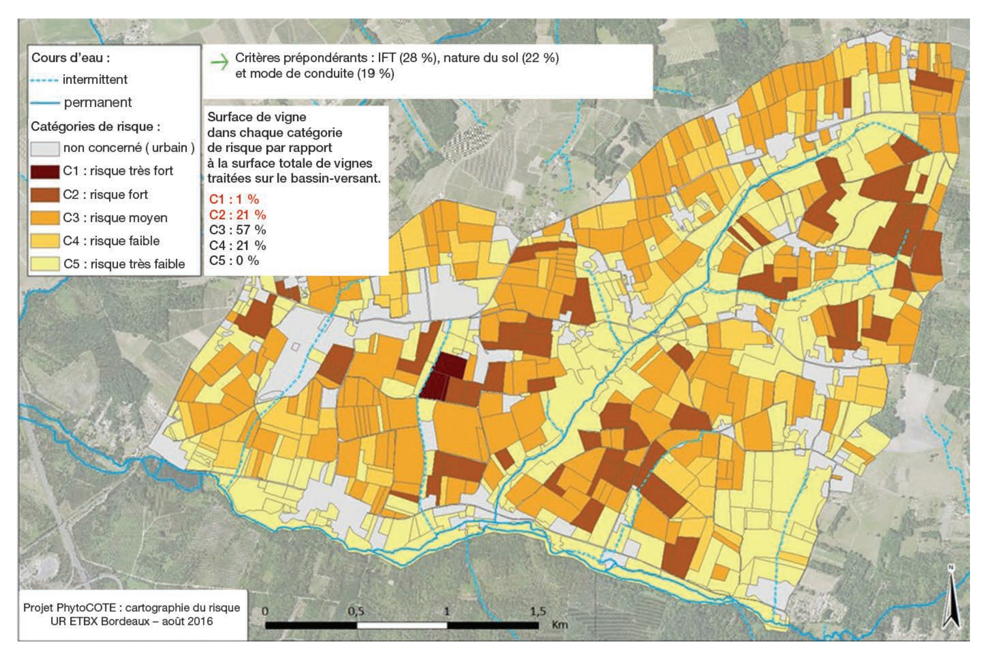


Figure 1.10. Cartographie du risque de transfert des pesticides vers les cours d'eau du BVE. Scénario de molécules à tendance hydrophobe.
Source : © BD Ortho (IGN), BD Topo (IGN).

Conclusion et perspectives

Quels que soient les modes de production relatifs à la conduite du vignoble, la forte sensibilité de la vigne aux multiples maladies cryptogamiques et aux ravageurs implique la mise en œuvre d'une protection phytosanitaire pour garantir le rendement espéré et la qualité des raisins. Cette protection peut se présenter sous différentes formes suivant que l'exploitation soit conduite en mode conventionnel plus ou moins raisonné, suivant le respect ou non de niveaux de certification environnementale, voire en mode agrobiologique.

Les contextes naturels, pédoclimatiques et de relief, conjugués avec les pratiques agroenvironnementales des viticulteurs, dont les technologies de pulvérisation, induisent des risques différenciés de transferts des molécules chimiques vers les écosystèmes, notamment aquatiques. Ces risques peuvent être cartographiés à partir des parcelles viticoles d'émission, jusqu'aux milieux récepteurs, dont les impacts écotoxicologiques seront présentés dans les chapitres qui suivent. L'aversion au risque de perte de récolte par les viticulteurs est généralement d'autant plus forte que les marges économiques sont étroites, ce qui freine assez fortement les pratiques visant à réduire la pression des traitements phytosanitaires.

Le projet PhytoCOTE, conduit dans le Bordelais entre 2015 et 2019, a permis de valider une méthode multicritère couplée à un système d'information

géographique, afin d'évaluer des risques agroenvironnementaux de transferts des pesticides depuis leurs usages sur les parcelles agricoles jusqu'aux écosystèmes connexes. Cette méthode pédagogique d'aide à la décision est applicable à des contextes viticoles très différents. Sa mise en œuvre dans différents contextes et régions viticoles permettrait d'une part de mieux sensibiliser les professionnels viticoles aux risques liés à l'usage des pesticides pour l'environnement, d'autre part, d'apporter des éléments de réponse pour réduire de façon significative la pression des produits phytosanitaires sur les écosystèmes. De plus, elle faciliterait la vulgarisation des connaissances nécessaires pour effectuer des changements de pratiques en vue d'une orientation vers une transition agroécologique.

Références bibliographiques et numériques

Aka J., Alonso Ugaglia A., Lescot J.M., 2018. Pesticide use and risk aversion in the french wine sector. *Journal of Wine Economics* 13(4), 451-460.

Anatole-Monnier L., 2014. *Effets de la contamination cuprique des sols viticoles sur la sensibilité de la vigne à un cortège de bioagresseurs*. Thèse de doctorat (écologie et environnement), université de Bordeaux. https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-01198938/file/MONNIER_LAETITIA_2014.pdf.

Aubertot J.N., Barbier J.M., Carpentier A., Gril J.J., Guichard L., Lucas P. *et al.*, 2005. *Pesticides, agriculture et environnement : réduire l'utilisation des pesticides et en limiter les impacts environnementaux. Expertise scientifique collective*. Paris : Institut national de la recherche agronomique ; Antony : Cemagref, 902 p.

Barry C., Polvêche V., 2021. Recensement agricole 2020. Résultats provisoires. Ministère de l'Agriculture et de l'Alimentation. *Agreste-Primeur* 5. https://agreste.agriculture.gouv.fr/agreste-web/download/publication/publie/Pri2105/Primeur%202021-5_Recensement-Agricole-2020.pdf.

BIVB (Bureau interprofessionnel des vins de Bourgogne), 2021. *Quels porte-greffes en Bourgogne pour les 50 prochaines années ? Éléments bibliographiques et avis d'experts*. https://extranet.bivb.com/technique-et-qualite/projet-en-cours/viticulture/gallery_files/site/2992/48177/66771.pdf.

Calvet R. (coord.), 2002. Caractéristiques générales des modèles décrivant les transferts des pesticides. *In* ministère de l'Aménagement du territoire et de l'Environnement, Club environnement et société, *Modélisation des transferts de pesticides dans l'environnement*. Paris : ÉCRIN (Échange et coordination recherche industrie), 208 p. (coll. Les cahiers des clubs CRIN), 147-165.

Calvet R., 2003. Définition des risques et principes généraux d'estimation. *In* Barriuso E. (coord.), *Estimation des risques environnementaux des pesticides*. Paris : Institut national de la recherche agronomique, 19-24.

Casamayor P., 2002. *L'école de la dégustation : le vin en 100 leçons*. Paris : Hachette, 272 p.

Chambre d'agriculture de la Gironde, Chambre régionale d'agriculture Nouvelle-Aquitaine, Chambre d'agriculture de Charente-Maritime, 2017. *La vigne : guide de l'observateur*. https://nouvelle-aquitaine.chambres-agriculture.fr/agro-environnement/ecophyto/bsv-bulletin-de-sante-du-vegetal/guides-de-lobservateur/guide-de-lobservateur-vigne/?tx_egestiondocs_gestiondocs%5Bfolder%5D=1%3A%2Fuser_upload%2FNouvelle-Aquitaine%2F094_Inst-Nouvelle-Aquitaine%2FDocuments%2FBSV_2017%2FGuides_de_l_observateurs%2FGuide_observateur_VIGNE%2F&tx_egestiondocs_gestiondocs%5Bcontroller%5D=Document&cHash=98908a9a563430715405d6a06dd77bd6.

CGDD (Commissariat général au développement durable), 2017. *Pesticides : évolution des ventes, des usages et de la présence dans les cours d'eau depuis 2009*. https://www.statistiques.developpement-durable.gouv.fr/pesticides-evolution-des-ventes-des-usages-et-de-la-presence-dans-les-cours-deau-depuis-2009.

Corpen (Comité d'orientation pour des pratiques respectueuses de l'environnement), 2003. *Éléments méthodologiques pour un diagnostic régional de la contamination des eaux liée à l'usage des produits phytosanitaires*. https://professionnels.ofb.fr/sites/default/files/pdf/CORPEN%20(2003).pdf.

Dard P., 1994. *Tout savoir sur le vin*. Paris : Comptoir du livre-Créalivres, 382 p.

Figueira J., Roy B., 2002. Determining the weights of criteria in the Electre type methods with a revised Simos' procedure. *European Journal of Operational Research*, 139(2), 317-326. https://doi.org/10.1016/S0377-2217(01)00370-8.

FranceAgriMer, 2018. *Les chiffres de la pépinière viticole 2017*. https://www.franceagrimer.fr/fam/content/download/58308/document/Les%20chiffres%20de%20la%20p%C3%A9pini%C3%A8re%20viticole%20-%20Edition%202017.pdf?version=1.

Gily M., 2006. Les modes de conduite à feuillage déployé. Partie 1. *Infowine.com, revue interne de viticulture et œnologie*, n° 10. https://www.infowine.com/intranet/libretti/libretto3347-01-1.pdf.

IFV (Institut français de la vigne et du vin), 2007. Pulvérisation en viticulture durable. Choix du matériel et réglages. *Cahier Itinéraires*, n° 16. https://www.vignevin-occitanie.com/wp-content/uploads/2018/12/Itin16_PulveVitiDurable.pdf.

IFV (Institut français de la vigne et du vin), 2014. *Guide des bonnes pratiques pour la limitation de la dérive de pulvérisation. Projet TOPPS Prowadis*. https://www.vignevin.com/wp-content/uploads/2019/03/PROWADIS_Flyers_032014_VF_taille_reduite.pdf.

IFV (Institut français de la vigne et du vin), 2022. *Fiches pratiques en viticulture*. https://www.vignevin-occitanie.com/fiches-pratiques/.

Jobé J. (dir.), 1994. *Le nouveau grand livre du vin*. Lausanne : Edita, 503 p.

Larignon P., Yobrégat O., 2016. *Comment lutter contre les maladies du bois de la vigne ? Cahier pratique*. Institut français de la vigne et du vin. https://www.vignevin.com/wp-content/uploads/2018/12/CAHIER_PRATIQUE_LARIGNON_050816-1.pdf.

MAA (Ministère de l'Agriculture et de l'Alimentation), 2019. Arrêté du 27 décembre 2019 relatif aux mesures de protection des personnes lors de l'utilisation de produits phytopharmaceutiques et modifiant l'arrêté du 4 mai 2017 relatif à la mise sur le marché et à l'utilisation des produits phytopharmaceutiques et de leurs adjuvants visés à l'article L. 253-1 du code rural et de la pêche maritime. *Journal officiel de la République française*, 0302, texte n° 99. https://www.legifrance.gouv.fr/loda/id/JORFTEXT000039686039/.

Macary F., 2013. *Évaluation des risques de contamination des eaux de surface sur des bassins-versants agricoles. Approches multiscalaires par modélisation spatiale et analyse multicritère pour l'aide à la décision*. Thèse de doctorat en sciences de l'environnement (hydrologie, hydrochimie, sol, environnement), université de Toulouse, INPT, 277 p. + 244 p. annexes.

Macary F., Almeida Dias J., Figueira J., Roy B., 2014. A multiple criteria decision analysis model based on Electre Tri-C for erosion risk assessment in agricultural areas. *Environmental Modeling & Assessment*, 19, 221-242.

Macary F., Devier M.H., Lescot J.M., 2016. *PhytoCOTE : un projet intégratif des usages de pesticides dans le vignoble Bordelais, de leurs transferts et impacts sur les écosystèmes, des effets de changement de pratiques. 46e congrès du Groupe français des pesticides, 17-19 mai 2016, Bordeaux*. http://www.gfpesticides.org/bdd_fichiers/1445c89a66a57a6ce8210e2b5218dca723d98a8e5fe.pdf.

MAP (ministère en charge de l'Agriculture), 2008. *Plan Écophyto 2018 de réduction des usages de pesticides 2008-2018*. http://temis.documentation.developpement-durable.gouv.fr/docs/Temis/0082/Temis-0082750/22141.pdf.

MASA (Ministère de l'Agriculture et de la Souveraineté alimentaire), 2021. *Publication des données provisoires des ventes de produits phytopharmaceutiques en 2020*. https://agriculture.gouv.fr/publication-des-donnees-provisoires-des-ventes-de-produits-phytopharmaceutiques-en-2020.

Mezière D., Gary C., 2009. *Écophyto R&D. Vers des systèmes de culture économes en produits phytosanitaires. Tome III : analyse comparative de différents systèmes en viticulture*. Paris : ministère de l'Écologie, de l'Énergie, du Développement durable et de l'Aménagement du territoire, ministère de l'Agriculture et de la Pêche, Institut national de la recherche agronomique, 84 p.

OIV (Organisation internationale de la vigne et du vin), 2010. *Résolution OIV/VITI 333/2010 : définition du « Terroir vitivinicole »*. https://www.oiv.int/public/medias/382/viti-2010-1-fr.pdf.

OIV (Organisation internationale de la vigne et du vin), 2019. *Bilan de l'OIV sur la situation vitivinicole mondiale*. https://www.oiv.int/public/medias/6777/fr-oiv-communiquepresse-bilan-annuel-2019.pdf.

Ollat N., Kremer A., 2013. Chapitre 5 : Agriculture et forêts. *In* Le Treut H. (dir.), *Les impacts du changement climatique en Aquitaine*. Pessac : Presses universitaires de Bordeaux, Laboratoire de géographie physique appliquée, 107-154. https://doi.org/10.4000/books.pub.642.

Pelsy F., Merdinoglu D., 2021. *La vigne, miracle de la nature ? 70 clés pour comprendre la viticulture*. Versailles : éditions Quæ, 176 p. (coll. Clés pour comprendre).

Pierdet M., 2020. *Évolution spatiale et temporelle de la mobilité des contaminants organiques et inorganiques dans des sols viticoles contrastés*. Thèse de doctorat, université de Bordeaux, 368 p.

Reynier A., 2016. *Manuel de viticulture : guide technique du viticulteur*. Paris : Lavoisier, 12e édition, 587 p. (coll. Tec & Doc).

van der Werf H.M.G., 1996. Assessing the impact of pesticides on the environment. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 60(2-3), 81-96. https://doi.org/10.1016/S0167-8809(96)01096-1.

Vinopôle Bordeaux-Aquitaine, 2022. *Gestion du cuivre : comment respecter la limite de 4 kg de cuivre par an ?* https://www.vinopole.com/recherches-experimentations-vitivinicoles/agro-ecologie/diminution-des-intrants/gestion-du-cuivre-en-viticulture/.

Voltz M., Louchart X., 2001. Les facteurs-clés de transfert des produits phytosanitaires vers les eaux de surface. *Ingéniéries-EAT-14*, n° spécial Phytosanitaires, 45-54. https://revue-set.fr/article/view/5913.

2

Le cuivre dans les sols viticoles

Laurence Denaix, Manon Pierdet, Pierre Blondel, Frédéric Ouédraogo, Jean-Yves Cornu

Introduction et contexte

En France, l'utilisation du cuivre en tant que fongicide contre le mildiou de la vigne (*Plasmopara viticola*) remonte à l'invention de la bouillie bordelaise ($Ca(OH)_2$+$CuSO_4$) en 1882. Auparavant, il était déjà utilisé en viticulture, badigeonné sur les échalas afin d'en prolonger la durée de vie (Branas, 1984). Grâce à son action polyvalente, son utilisation en tant que produit de contact sur les parties aériennes s'est rapidement généralisée pour lutter contre les maladies cryptogamiques en vigne.

Il existe de nombreuses formulations de fongicides à base de cuivre. La bouillie bordelaise, la plus couramment utilisée, est le résultat de la neutralisation d'une solution aqueuse de sulfate de cuivre ($CuSO_4$, $5H_2O$) par du lait de chaux ($Ca(OH)_2$). Aujourd'hui, le cuivre est également utilisé sous d'autres formes : hydroxyde de cuivre, oxychlorure de cuivre, oxyde cuivreux.

Teneurs et stocks de cuivre dans les sols viticoles

Dans les horizons de surface

Le cuivre est un élément trace métallique naturellement présent dans les roches et les sols. Les concentrations rencontrées dans les horizons de surface des sols non contaminés sont de l'ordre de 10 à 30 mg/kg de sol (Baize, 1997). Ces teneurs d'origine pédogéochimique dépendent de la roche-mère : les sols développés sur des roches d'origine sédimentaire contiennent souvent plus de cuivre que les sols développés sur des roches magmatiques (métamorphiques ou plutoniques), les roches les plus concentrées en cuivre étant les roches volcaniques (Adriano, 2001).

Les concentrations actuelles de cuivre dans les sols sont le résultat de l'accumulation de différentes sources. Ainsi, les retombées atmosphériques peuvent avoir des origines naturelles telles que l'érosion éolienne, les éruptions volcaniques, les sels marins et les feux de forêts, ou des origines anthropiques comme les activités

industrielles, minières, agricoles et l'incinération de déchets. Les retombées atmosphériques moyennes en France sont estimées à 9 g Cu/ha/an (Sogreah et Ademe, 2007). Aux retombées atmosphériques s'ajoutent dans les sols agricoles des apports anthropiques liés aux pratiques agricoles : fertilisation minérale, amendements organiques (déjections animales, boues urbaines, sous-produits agro-industriels comme les vinasses ou les composts) et traitements phytosanitaires. Dans le cas des sols viticoles, ce sont essentiellement les apports de produits phytosanitaires qui sont à l'origine de l'accumulation du cuivre, même si d'autres types d'apport sont une source parfois non négligeable. Par exemple, l'épandage, dans les années 1970 à 1990, de composts de déchets ménagers a conduit dans certaines parcelles viticoles à un accroissement notable des teneurs en cuivre, mais aussi en autres métaux (plomb, zinc, cadmium…).

À l'échelle européenne, les teneurs en cuivre dans la couche de surface des sols (0-20 cm), recensées par le réseau LUCAS, fluctuent de quelques mg/kg à 496 mg/kg, avec une médiane à 12 mg/kg (Ballabio *et al.,* 2018) (tableau 2.1). Le réseau de mesure de la qualité des sols (RMQS) qui a analysé à l'échelle de la France les teneurs en éléments traces métalliques recense des teneurs pour la couche de surface (0-30 cm) allant jusqu'à 508 mg Cu/kg avec une médiane à 13 mg/kg.

Tableau 2.1. Gammes de teneurs en cuivre mesurées dans la couche de surface pour différents vignobles français.

Région	Teneur Cu total (mg/kg sol)	Référence
Côtes de Blaye	6-250 mg/kg	Pierdet, 2020
Pessac-Léognan	1,4-383 mg/kg	Anatole-Monnier, 2014
Champagne	149-639 mg/kg	Chopin *et al.*, 2008, Besnard *et al.* 2001 ; Blondel, 2021
Bourgogne	71-332 mg/kg	Parat *et al.*, 2002
Languedoc-Roussillon	22-1030 mg/kg	Michaud *et al.*, 2007 ; Bravin, 2007
Midi-Pyrénées	22-166 mg/kg	Regourd, 2000 ; Blondel, 2021

Ces teneurs correspondent à des stocks pouvant aller jusqu'à plus d'1 tonne de cuivre par hectare accumulé sur les 45 premiers centimètres du sol pour des parcelles toujours conduites en viticulture depuis le début du XXe siècle (Pierdet, 2020).

Les pratiques de traitement de la vigne ont évolué au cours du temps. Avant la seconde guerre mondiale, la dose de cuivre apportée était de l'ordre de 20 à 50 kg/ha/an (Branas, 1984). La dose appliquée actuellement a considérablement diminué et varie, en moyenne, de 2,5 à 6,5 kg/ha/an (Andrivon *et al.*, 2017). Les différences annuelles sont liées à la variabilité des conditions climatiques selon les régions et les années, notamment à la pluviométrie pendant la période de croissance de la vigne, qui conditionne fortement le développement du mildiou. Ainsi, c'est en régions subtropicales que se trouvent les sols viticoles les plus contaminés en cuivre au monde (Brésil), avec des teneurs maximales dans la couche de surface de 3 200 mg/kg, en lien avec les fortes précipitations (Mirlean *et al.*, 2007).

En Europe, la dose de cuivre applicable est actuellement limitée à une valeur moyenne de 4 kg Cu/ha/an lissée sur 7 ans (CE 2018/1981). Des discussions sont en cours pour supprimer la notion de lissage, ce qui pourrait être compliqué les années à forte pression, notamment pour les viticulteurs en agriculture biologique qui n'utilisent que des fongicides à base de cuivre pour lutter contre le mildiou. Les teneurs mesurées dans les sols aujourd'hui sont le résultat des applications passées. Il y a donc une relation entre le nombre d'années pendant lesquelles le sol a été cultivé en vigne et la teneur en cuivre mesurée aujourd'hui dans sa couche de surface (figure 2.1).

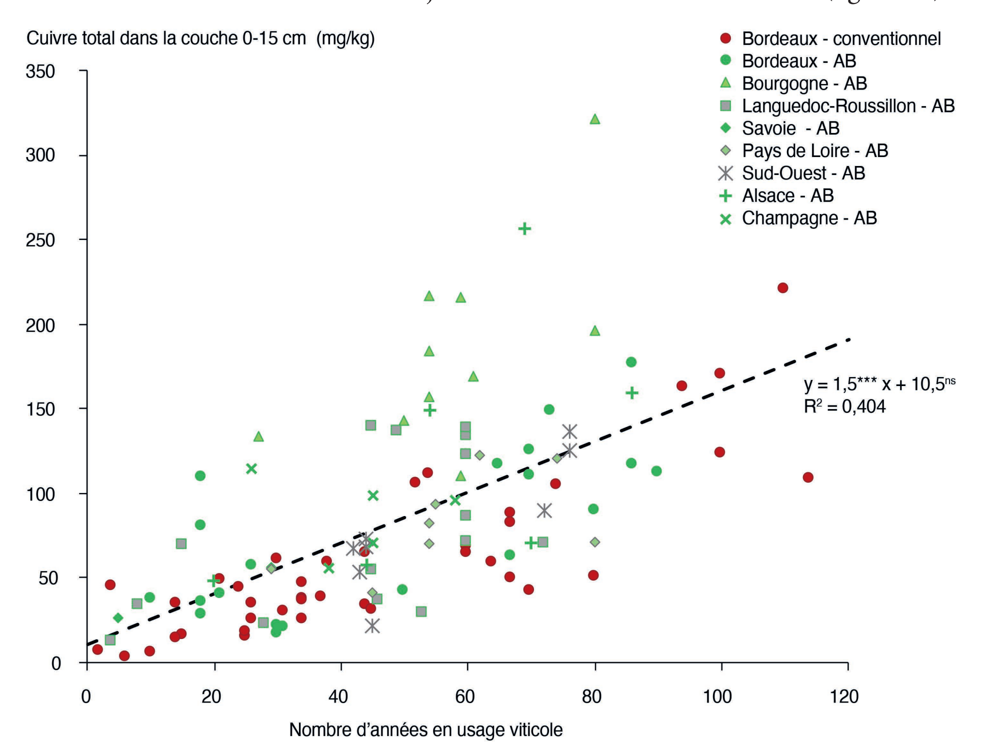


Figure 2.1. Relation significative (p < 0,001) entre l'âge viticole des sols et la teneur en cuivre de leur couche de surface (0-15 cm) pour des sols issus de différentes études (Anatole-Monnier, 2014 ; Pierdet, 2020 ; Blondel, 2021 ; Ouédraogo *et al.*, 2022) et provenant de différents vignobles français. Les sols ayant reçu des apports de compost urbains ont été exclus de cette analyse. Le nombre d'années en usage viticole de chaque parcelle est obtenu à partir d'une analyse de photographies aériennes anciennes (https://remonterletemps.ign.fr/). Les points en vert sont aujourd'hui conduits en agriculture biologique et les points en rouge le sont en agriculture conventionnelle. Aucune différence de cinétique d'accumulation de cuivre dans les sols n'apparaît entre les sols qui sont aujourd'hui en agriculture biologique et ceux qui sont aujourd'hui en agriculture conventionnelle.

Distribution du cuivre dans les profils de sols

Le cuivre contamine la surface des sols viticoles suite à son lessivage depuis les feuilles de vigne après chaque épisode pluvieux, et s'accumule pour grande partie dans la couche de surface. Une grande variabilité spatiale est ainsi observée, avec, à l'échelle de la parcelle, des teneurs différentes sous le rang et à l'inter-rang

(Mirlean *et al.,* 2007). Cette variabilité se retrouve également entre les parcelles en fonction des pratiques de traitements phytosanitaires actuelles ou passées, et des usages anciens de ces parcelles.

Le cuivre peut être incorporé dans les profils selon des processus pédologiques ou anthropiques. Deux processus pédologiques peuvent entraîner les contaminants en profondeur : le lessivage (transfert particulaire ou colloïdal) et la lixiviation (transfert sous forme ionique). Dans des sols sableux et acides, notamment les podzosols, ou dans les sols lessivés, un transfert du cuivre peut être observé vers les horizons d'accumulation plus profonds (horizons podzoliques ou argilluviaux). Ce transfert peut être plus ou moins important selon la pluviométrie (Mirlean *et al.,* 2007). Cependant, dans les sols viticoles chaulés, ce transfert vertical du cuivre semble limité par blocage des processus pédologiques qui se produisent de façon plus intense à pH acide. L'incorporation du cuivre dans le profil est par contre notable après le labour qui précède la replantation. Ce labour, qui va enfouir la couche de surface, modifie la distribution du cuivre dans le sol, créant parfois des couches très contaminées vers 30 à 40 cm de profondeur (Brun *et al.*, 1998 ; Pierdet, 2020). La figure 2.2 illustre cette distribution dans différents sols, dont un podzosol qui, ayant connu deux plantations successives, présente cette « inversion » de teneur en cuivre, la couche 15-30 cm étant plus contaminée que la couche de surface (0-15 cm). Le labour profond peut aussi affecter l'agrégation et le lessivage particulaire, favoriser la minéralisation de la matière organique ou modifier l'adsorption du cuivre sur les constituants du sol, tous ces processus favorisant les transferts en profondeur.

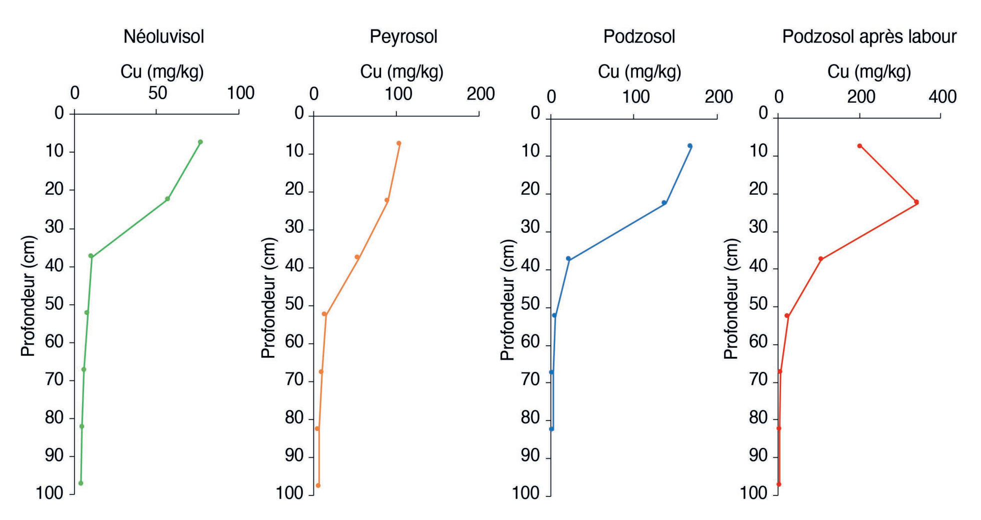


Figure 2.2. Distribution du cuivre dans différents sols de la région de Blaye ayant tous un passé viticole de plus de 70 ans (Pierdet, 2020).

Mobilité vers les aquifères superficiels

Le cuivre étant fortement retenu en surface, ses transferts vers les aquifères superficiels se font essentiellement par érosion et ruissellement, notamment dans les vignobles en pente dont la surface n'est pas enherbée. Les concentrations en cuivre dans les eaux de ruissellement sont bien plus élevées, parfois de plus d'un facteur 20, que dans les eaux d'infiltration (Banas *et al.*, 2010). L'étude des niveaux de contamination des eaux des bassins de rétention en aval des parcelles viticoles recevant les eaux de ruissellement montrent des concentrations pouvant dépasser 100 µg/L et ainsi excéder les seuils toxiques d'un grand nombre d'espèces aquatiques. Malgré cela, le rapport entre la quantité exportée par ruissellement comparée à la quantité totale dans les sols reste très faible. Le traçage isotopique du cuivre dans un bassin-versant a permis d'estimer à environ 1 % la part de cuivre total transférée par ruissellement, dont seulement 16 % sous forme dissoute (Babcsányi *et al.*, 2016).

De manière générale il est admis que le cuivre a une faible mobilité dans les sols. Cependant, les aquifères supérieurs sont souvent plus contaminés en cuivre dans les zones viticoles. Un suivi des eaux de drainage de parcelles viticoles bordelaises a montré une variation de concentration allant de 9 à 430 µg/L au cours de l'année (Pierdet, 2020). Les données de cuivre dans les eaux de bassins-versants agricoles espagnols (Arenas-Sánchez *et al.*, 2019) montrent des concentrations dans les différents ruisseaux variant au cours de la saison, avec des concentrations maximales de 15 µg/L. Dans des cours d'eau de volumes plus élevés, un phénomène de dilution se produit et ainsi le niveau retrouvé dans la Garonne est de l'ordre de 5 µg/L (Masson *et al.*, 2006). Cependant, les variations de débits prévues suite au changement climatique pourraient conduire à une augmentation de ces teneurs, et donc à une dégradation de la qualité des masses d'eau.

Spéciation[9], réactivité et biodisponibilité du cuivre

Pourquoi le cuivre est-il fortement retenu en surface ? Affinités pour les phases solides du sol

La matrice solide est le compartiment accumulateur de cuivre dans les sols. Dans la plupart des sols, de 95 % à 99 % du cuivre sont associés à la matrice solide, selon un schéma de répartition illustré en figure 2.3. Deux grands mécanismes d'adsorption[10] expliquent la rétention sur les phases solides : l'adsorption physique (physisorption) ou l'adsorption chimique (chimisorption).

Dans le cas de la physisorption, les ions métalliques (ici Cu^{2+}) sont fixés sur les surfaces chargées négativement par attraction électrostatique assimilée à de

9. La spéciation est la description des différentes formes chimiques prises par un élément dans un milieu (ex. : matrice solide du sol, eau porale).

10. L'adsorption est définie comme la fixation d'un élément sur une surface réactive, ici sur un constituant du sol.

l'échange d'ions. Ce processus est quasi instantané et réversible. La matière organique solide et les phyllosilicates sont quantitativement les principaux constituants du sol impliqués dans la physisorption du cuivre. Le cuivre présent sous cette forme est facilement échangeable avec d'autres cations présents en solution tels que le proton (H^+) ou le calcium (Ca^{2+}).

La chimisorption implique l'établissement d'une liaison chimique (de type covalente ou ionique) entre le métal (ici le cuivre) et les atomes en surface des constituants du sol. L'énergie de liaison est beaucoup plus forte que dans le cas de la physisorption et le processus est beaucoup moins réversible. La complexation de surface est le principal mécanisme de chimisorption des ions métalliques. Les oxydes de fer, aluminium ou manganèse et les matières organiques sont les principaux constituants du sol impliqués dans la complexation du cuivre.

Dans les sols carbonatés, le cuivre peut aussi précipiter avec ou sous forme de carbonates. De tels carbonates de cuivre, de type malachite[11], ont ainsi été observés dans les sols de Champagne (Besnard *et al.,* 2002).

Le cuivre s'accumule ainsi majoritairement dans les fractions les plus fines du sol, ou dans les matières organiques particulaires en décomposition (Flores-Vélez *et al.*, 1996 ; Besnard *et al.*, 2002).

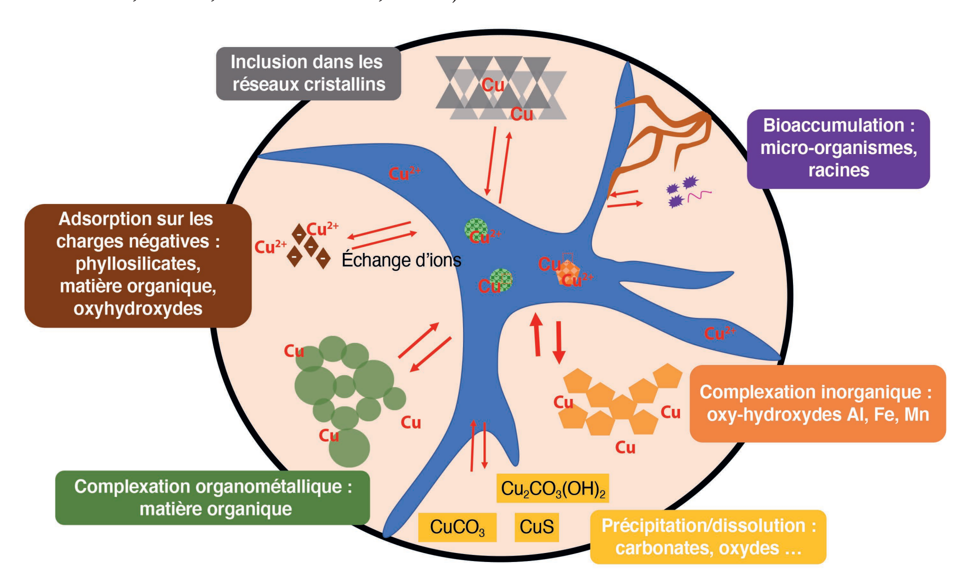


Figure 2.3. Représentation schématique de la répartition du cuivre entre les différents types de constituants du sol.

La forte affinité du cuivre pour la matière organique explique que, dans les sols viticoles, où l'entrée de cuivre se fait quasi exclusivement par la surface, cet élément s'accumule dans les premiers centimètres du sol, dès qu'il rencontre des constituants organiques.

11. La malachite est un carbonate de cuivre : $Cu_2CO_3(OH)_2$.

Échanges solide-solution

La mobilité du cuivre vers les nappes et son transfert vers les organismes vivants dépendent fortement de sa capacité à passer en solution. La concentration en cuivre dans l'eau porale[12] des sols est le plus souvent positivement corrélée à la teneur totale en cuivre du sol, et négativement corrélée à la teneur en matière organique du sol ou au pH (Sauvé *et al.,* 1997). Des relations (fonctions de pédotransfert) faisant intervenir les trois mêmes paramètres permettraient de prédire la concentration totale de cuivre dans l'eau porale de sols viticoles (Ouédraogo *et al.,* 2022).

Le passage du cuivre en solution dépend donc d'une part de la teneur en cuivre du sol : plus le sol contient de cuivre, plus la concentration de cuivre en solution en équilibre avec les constituants solides est élevée. Le passage du cuivre en solution dépend aussi de la nature de ces constituants, et notamment de sa teneur en matière organique. Plus le sol a une teneur en matière organique élevée, plus la concentration en cuivre total en solution a tendance à être faible, toutes choses étant par ailleurs égales. La matière organique agit sur la rétention du cuivre tant par sa quantité (sa teneur dans les sols) que par sa qualité, la capacité de fixation de cuivre par les matières organiques pouvant fortement varier, notamment avec leur degré d'humification. De plus, la matière organique dissoute favorise le passage du cuivre en solution grâce à la formation de complexes organométalliques solubles en fonction de sa qualité, notamment du type de molécules et de leur degré d'humification (Djae *et al.,* 2016).

Enfin, le passage du cuivre en solution dépend du pH du sol. La concentration du cuivre en solution est le plus souvent négativement corrélée au pH ; elle est donc généralement plus élevée dans les sols de pH acide que dans les sols de pH neutre à alcalin. Le pH du sol affecte l'ensemble des mécanismes de rétention du cuivre sur les phases solides. Il influe tout d'abord sur la charge de surface des constituants du sol. Ainsi, une hausse de pH a pour effet d'augmenter la charge de surface négative variable des phyllosilicates et des matières organiques et, par suite, de favoriser la physisorption de Cu^{2+}. Une hausse de pH favorise également la chimisorption du cuivre en augmentant l'hydrolyse de Cu^{2+} en solution et en diminuant la concurrence des protons pour la complexation de surface. Dans les sols contaminés en cuivre, la concentration de Cu^{2+} diminue de manière continue lorsque le pH augmente, alors que le cuivre total en solution ne diminue plus au-delà de pH 6, voire remonte au-delà de pH 7 (Bravin *et al.*, 2012). Cela semble être dû à l'augmentation avec le pH de la capacité de complexation de la matière organique en solution pour le cuivre.

Spéciation du cuivre en solution

En solution, le cuivre est présent soit sous forme ionique (Cu^{2+}), soit associé à des anions minéraux (HCO_3^-, CO_3^{2-}, SO_4^{2-}, Cl^-…), soit complexé par la matière organique dissoute (MOD). Cette spéciation est importante pour prédire

12. L'eau porale ou la solution du sol est l'eau et ses solutés qui remplissent la porosité du sol.

le comportement de cet élément dans les sols. Du fait de la grande affinité du cuivre pour la MOD, il est majoritairement présent en solution sous forme de complexes organiques. Dans les sols neutres à alcalins, la fraction de cuivre ionique est souvent inférieure à 1 % quand celle associée à la MOD est souvent supérieure à 95 % (Martinez et McBride, 1999). Le pH a un très fort effet sur la concentration en Cu^{2+} en solution. La figure 2.4 montre ainsi une relation négative, forte et étroite entre le pH et la fraction ionique de cuivre en solution dans des sols viticoles : le passage de pH 5,5 à pH 7 génère une diminution d'un facteur 1 000 de la fraction ionique du cuivre en solution. En conséquence, il est fréquent d'observer des concentrations de cuivre ionique en solution plus élevées dans des sols acides à teneurs modérées en cuivre que dans des sols alcalins à teneurs élevées en cuivre.

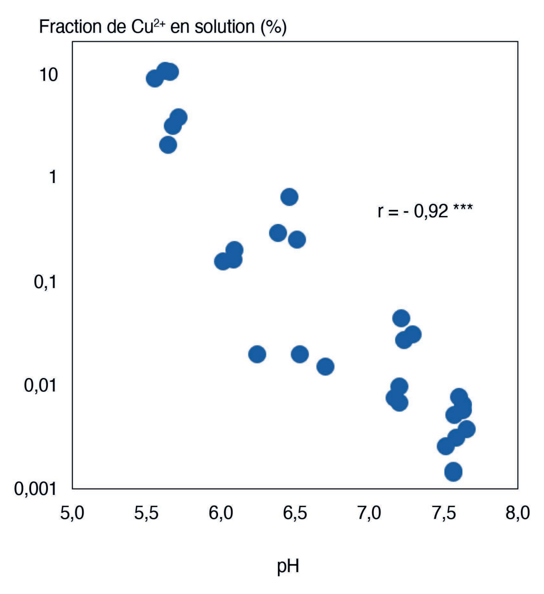


Figure 2.4. Relation entre le pH et la fraction ionique de cuivre mesurée dans l'eau porale de dix sols viticoles de l'AOP Pessac Léognan (Cornu *et al.*, 2020.

La matière organique est un compartiment dont la qualité et la quantité peuvent varier au cours du temps, du fait de l'activité microbienne, de la température ou de l'humidité des sols. Le pH est également variable sur une saison de culture en lien, notamment, avec la dynamique de l'azote (nitrification *versus* dénitrification). Cela a des conséquences sur les échanges sol-solution du cuivre. Ainsi, l'apport de matières organiques conduit le plus souvent à une augmentation de la concentration totale en solution, mais une baisse drastique de sa fraction ionique (Ouédraogo *et al.*, 2022).

Dans le cadre du projet PhytoCOTE, un monitoring sur quatre parcelles viticoles pendant plus d'une année a permis de suivre la composition chimique de la solution du sol extraite par bougies poreuses à une profondeur de 15 cm (Pierdet, 2020).

La figure 2.5 montre que cette concentration est très variable au cours de l'année. Il est possible de distinguer deux périodes : la période de traitement, entre avril et juillet, où la concentration dans la solution est impactée par les apports de fongicides. Le sol est capable de tamponner ces apports sauf dans le cas d'un sol acide sableux et pauvre en matière organique (D2) où les concentrations augmentent très fortement (facteur 5), alors que ce sol n'est pas le plus contaminé de la série étudiée.

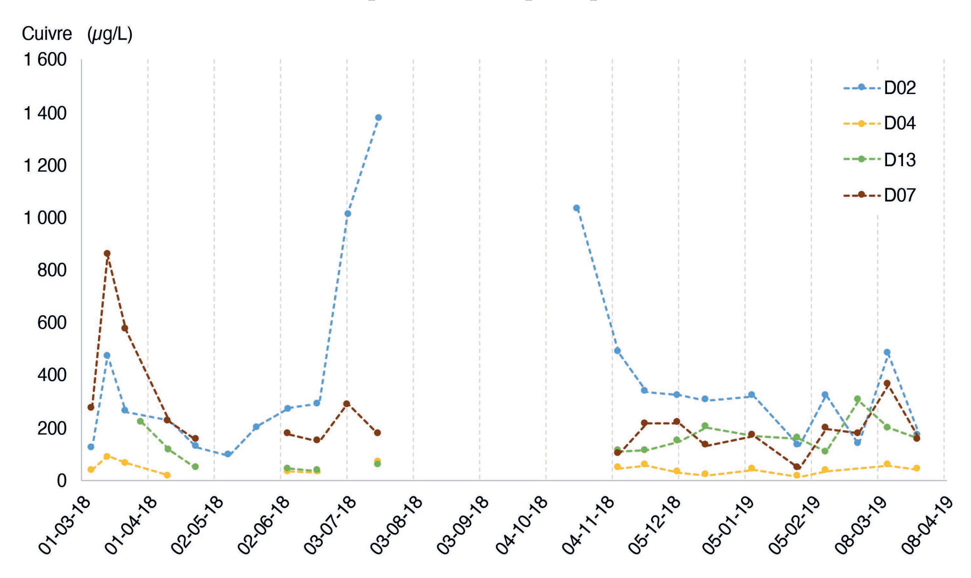


Figure 2.5. Évolution au cours du temps de la concentration totale en cuivre sur quatre sols viticoles dans l'appellation côtes-de-Blaye : D2 (Cu_{tot} = 101 mg/kg ; pH = 5,3 ; MO = 0,8 %) ; D4 (Cu_{tot} = 16 mg/kg ; pH = 7,4 ; MO = 2,1 %) ; D7 (Cu_{tot} = 197 mg/kg, pH = 6,8 ; MO = 1,4 %) ; D13 (Cu_{tot} = 161 mg/kg, pH = 6,5 ; MO = 1,1 %).

La seconde période correspond à la fin d'hiver/début de printemps ; c'est-à-dire la période de réchauffement des sols. Dans cette période, un pic de concentration de cuivre en solution a été mesuré dans tous les sols, d'autant plus élevé que cette teneur en cuivre était haute. Il semble donc que lors de la reprise de l'activité biologique liée à l'augmentation de la température du sol, les complexes cuivre-matière organique se dégradent, libérant ainsi du cuivre en solution. Nous avons confirmé cette observation deux années de suite.

Cet effet de la température nous conduit à nous interroger sur le fonctionnement futur des sols viticoles suite au réchauffement climatique. Une augmentation généralisée des températures conduira-t-elle à une minéralisation plus intense des complexes organiques fixant le cuivre ? Pour tester cette hypothèse, un suivi couplé de la dynamique du cuivre et de la matière organique a été réalisé dans des sols viticoles incubés à différentes températures pendant deux mois. Cette expérience souligne que l'effet d'une hausse de température sur la mise en solution du cuivre est assez variable entre les sols, selon la présence d'oxydes capables de fixer le cuivre libéré lors de la minéralisation de la MO (Ouédraogo *et al.*,

2022). Pour mieux prédire le comportement du cuivre dans les sols suite aux changements climatiques à venir, il semble important de poursuivre ces études sur une grande variété de sols, en incluant également l'effet de l'humidité du sol.

Biodisponibilité du cuivre

Les transferts vers les organismes s'expliquent par le concept de biodisponibilité. Ce concept décrit par Peijnenburg *et al.* (1997) et normalisé en 2006 (ISO 2006) se décompose en trois processus présentés dans la figure 2.6 :

– la disponibilité environnementale reflète la part de contaminants potentiellement disponibles pour les organismes vivants. Elle implique directement les échanges sol-solution de sol ;

– la biodisponibilité environnementale correspond à la part de contaminant susceptible d'entrer en contact avec les organismes du sol et d'être absorbée par des processus physiologiques ;

– la biodisponibilité toxicologique prend en compte l'accumulation des contaminants dans l'organisme et les processus de détoxification qui vont conduire, *in fine*, à une concentration dans l'organisme induisant l'expression d'une toxicité.

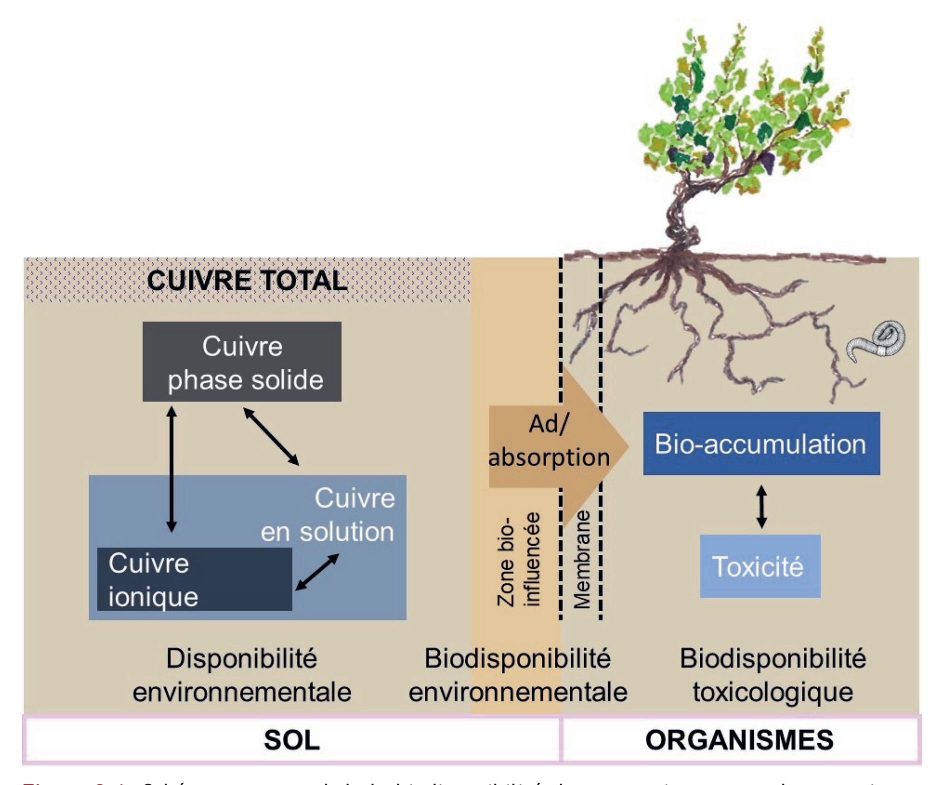


Figure 2.6. Schéma conceptuel de la biodisponibilité des contaminants pour les organismes du sol (Pierdet, 2020).

La spéciation du cuivre en solution est importante pour prédire la biodisponibilité du cuivre dans le sol. En effet, seul l'ion Cu^{2+} en solution est considéré comme capable de traverser une membrane biologique et d'être absorbé par un organisme vivant. Certains complexes présents en solution dits « labiles » peuvent se dissocier et alimenter le flux de Cu^{2+} prélevé par les organismes. Ces complexes labiles de cuivre sont donc à inclure dans le compartiment disponible.

À l'interface sol-membrane biologique, l'organisme vivant peut modifier la spéciation du cuivre par l'intermédiaire de son effet sur les conditions physico-chimiques du milieu, notamment le pH par l'excrétion de protons (H^+) ou d'ions hydroxyles (OH^-). Mais il peut aussi agir (dans une moindre mesure) sur la concentration de ligands[13] susceptibles de complexer le cuivre par le biais de l'exsudation d'acides organiques. Le prélèvement de cuivre par l'organisme peut également générer un appauvrissement progressif de la concentration de Cu^{2+} en solution dans son proche environnement. C'est pourquoi il faut prendre en compte ces processus à l'œuvre dans la zone bio-influencée (rhizosphère pour les plantes) pour évaluer la biodisponibilité environnementale. Une telle prise en compte a permis de montrer, par exemple, que l'activité alcalinisante des racines de blé dur en sols très acides induit une forte diminution de la biodisponibilité du cuivre dans la rhizosphère (Bravin, 2007).

Le niveau d'exposition critique au-dessus duquel le cuivre exprime sa toxicité peut fortement varier entre organismes vivants en fonction de l'efficacité des processus de détoxification à l'œuvre. La biodisponibilité toxicologique doit prendre en compte ces processus (décrits plus bas pour le cuivre) pour prédire l'écotoxicité réelle du cuivre dans un contexte donné, caractérisé par un degré de sensibilité/tolérance au cuivre des organismes exposés.

Écotoxicité du cuivre

Le cuivre est un oligoélément indispensable à la vie. Il est impliqué dans différentes fonctions physiologiques. Il existe donc une concentration tissulaire critique de cuivre en dessous de laquelle l'organisme est carencé et voit son métabolisme perturbé. De par ses valences multiples (Cu^+/Cu^{2+}), il joue un rôle important dans les systèmes enzymatiques impliquant des réactions d'oxydoréduction.

Au-delà d'un certain seuil, cet élément devient toxique, perturbant le fonctionnement physiologique ou la reproduction, jusqu'à la létalité. Cette toxicité à relativement faible dose s'explique par son aptitude à déplacer d'autres ions métalliques de leurs cibles physiologiques. L'excès de cuivre se traduit souvent par des déséquilibres nutritionnels.

Le cuivre a une action optimale dans une gamme étroite de concentrations : on passe donc de l'optimum à l'excès plus rapidement pour le cuivre que pour

13. Un ligand est une molécule ou un élément chimique qui se lie à un élément métallique, ici le cuivre, pour former un complexe métallique.

les macroéléments, voire que pour la plupart des oligoéléments (Cornu, 2017), d'où l'intérêt accru de bien maîtriser sa disponibilité dans les sols où il est présent en excès.

Plantes

Chez les plantes, le cuivre intervient dans des systèmes enzymatiques impliqués dans la chaîne respiratoire et la protection des tissus contre les espèces réactives de l'oxygène, mais aussi dans la photosynthèse, le métabolisme des parois cellulaires, la fixation de l'azote atmosphérique (chez les légumineuses) et la dégradation des protéines. Une teneur foliaire comprise entre 3 et 30 mg Cu/kg MS (matière sèche) est généralement considérée comme optimale pour la croissance des plantes (Reuter et Robinson, 1997). Notons que les plantes hypersensibles à la toxicité cuprique telles les crucifères peuvent montrer des signes de cette toxicité dès 20 mg Cu/kg dans leurs organes aériens. Le signe le plus visible de l'excès de cuivre dans une plante est l'induction d'une déficience en fer et de symptômes de chlorose ferrique (jaunissement des feuilles).

La forme chimique absorbée par les racines des plantes est la forme ionique (l'ion Cu^{2+} est réduit en Cu^{+} à la surface des racines avant d'être internalisé par des protéines membranaires spécifiques telles que les protéines COPT). Par homologie avec le fer, il est suggéré que des complexes Cu-phytosidérophores[14] (voire Cu-sidérophores microbiens) sont prélevés intacts par les racines des graminées, mais cela n'a pas été démontré expérimentalement.

Le cuivre s'accumule principalement dans les racines, majoritairement dans l'apoplasme[15]. Sa translocation vers les organes aériens est finement régulée de manière à protéger notamment l'appareil photosynthétique qui tolère mal les excès de cuivre. Les racines sont donc l'organe « tampon » qui stocke et détoxifie le cuivre lorsque celui-ci est présent en excès dans le sol, et ce jusqu'à une concentration critique qui varie en fonction des plantes et de leur tolérance au cuivre, selon l'efficacité de leurs processus de détoxification dans les racines. Ces processus visent à limiter le prélèvement de cuivre et à le séquestrer dans des lieux (vacuole, paroi cellulaire) et sous des formes chimiques (par exemple complexé à des biomolécules telles les métallothionéines) minimisant son effet néfaste sur le métabolisme de la plante. Au-delà d'une concentration critique, le cuivre provoque une « rhizotoxicité » qui se traduit par un épaississement et un raccourcissement des racines, l'apparition d'une coloration brune, la diminution de la ramification et, à l'extrême, un déchirement des tissus périphériques.

Il est compliqué de définir des seuils de phytotoxicité de contaminants dans les sols – que ce soit des seuils d'effet (CEx = concentration effective induisant x %

14. Molécules organiques exsudées par les racines des plantes chélatant les métaux dont le fer pour favoriser leur assimilation.

15. Zone externe de la racine qui comprend l'espace intercellulaire.

d'effet sur la croissance de la plante) ou de non-effet (NOEC = no observed effect concentration) – car ceux-ci dépendent fortement de la méthodologie suivie. Dans la plupart des travaux menés sur le cuivre, du cuivre frais est apporté au sol et des végétaux sont cultivés, soit immédiatement après l'apport, soit après un temps d'équilibre permettant au cuivre de se redistribuer sur les différentes phases (ce temps d'équilibre est appelé « vieillissement » du cuivre). Les paramètres suivis sont l'élongation racinaire ou la biomasse produite. Ces travaux fournissent des seuils de phytotoxicité du cuivre très variables selon les sols (tableau 2.2) lorsque ceux-ci sont exprimés en teneur totale de cuivre dans le sol, c'est-à-dire sans tenir compte de sa disponibilité. Fort logiquement, ces valeurs seuils telles qu'exprimées dépendent étroitement des caractéristiques du sol influant sur la disponibilité du cuivre : pH, CEC, teneur en matière organique et teneur en oxydes de fer (Rooney *et al.*, 2006). Les seuils les plus bas sont d'ailleurs peu réalistes car ils correspondent à des teneurs du fond pédogéochimique de nombreux types de sols.

Tableau 2.2. Seuils écotoxiques minimum et maximum exprimés en mg Cu/kg sol pour différentes plantes cultivées sur des sols contaminés artificiellement en cuivre (NA = non analysé).

Plante	Organe	Critère	NOEC	CE50	Références
Orge	Racines	Élongation	30-80	40-2 480	Rooney *et al.*, 2006 Ruyters *et al.*, 2013 Daoust *et al.*, 2006
	Parties aériennes	Élongation	NA	141-5 820	Daoust *et al.*, 2006
Blé tendre	Parties aériennes	Production de biomasse	NA	240-1 405	Warne *et al.*, 2008
Tomate	Parties aériennes	Production de biomasse	19-198	22-851	Rooney *et al.*, 2006 Ruyters *et al.*, 2013
Laitue	Plante entière	Production de biomasse	NA	104-729	Sacristán *et al.*, 2015

À notre connaissance, très peu d'études visant à déterminer les seuils de phytotoxicité de cuivre dans les sols ont intégré des indicateurs de disponibilité du cuivre tels que les teneurs extractibles par un extractant chimique, les concentrations en cuivre (total ou ionique) dans l'eau porale ou les quantités accumulées par un capteur passif de type DGT (cf. p. 68 pour plus de détails sur ces indicateurs).

En revanche, des seuils de phytotoxicité ont été déterminés à partir de cultures hydroponiques, avec l'objectif de comparer à ces seuils les concentrations en cuivre mesurées dans l'eau porale des sols pour juger de leur phytotoxicité. Cette idée repose sur la relation étroite observée dans les sols entre la concentration en cuivre de l'eau porale et les effets phytotoxiques du cuivre (Lock et Janssen, 2003 ; Kader *et al.*, 2016). Le tableau 2.3 présente des valeurs seuil de toxicité cuprique – exprimées en concentration de cuivre en solution – obtenues pour différentes plantes.

Tableau 2.3. Seuils écotoxiques retrouvés dans la littérature pour différentes plantes cultivées en solution hydroponique ou en sol. Ces valeurs sont exprimées en µg/L.

	Milieu	Plante	Seuils de toxicité	Valeurs (µg/L)	Références
Cuivre total	Solution hydroponique	Vigne	CE50	250	Juang *et al.*, 2012
		Maïs	CE50	413	Ouzounidou *et al.*, 1995
		Blé dur	CE50	489	Michaud *et al.*, 2008
		Tournesol	CE50	607	Kolbas *et al.*, 2014
Cuivre ionique (Cu^{2+})	Solution hydroponique	Blé dur	CE50	4	Bravin *et al.*, 2010a
		Vigne	CE50	32	Garcia, 2004
	Eau porale de sols	Concombre	CE50	140	Kader *et al.*, 2016

En comparant avec les concentrations mesurées dans l'eau porale des sols viticoles, il apparaît clairement que ces valeurs sont dépassées, notamment pour la vigne dans certains sols acides fortement contaminés en cuivre (figure 2.7). L'étude faite sur l'évolution temporelle de la concentration en solution montre aussi un dépassement de ces seuils à certaines périodes de l'année (figure 2.5).

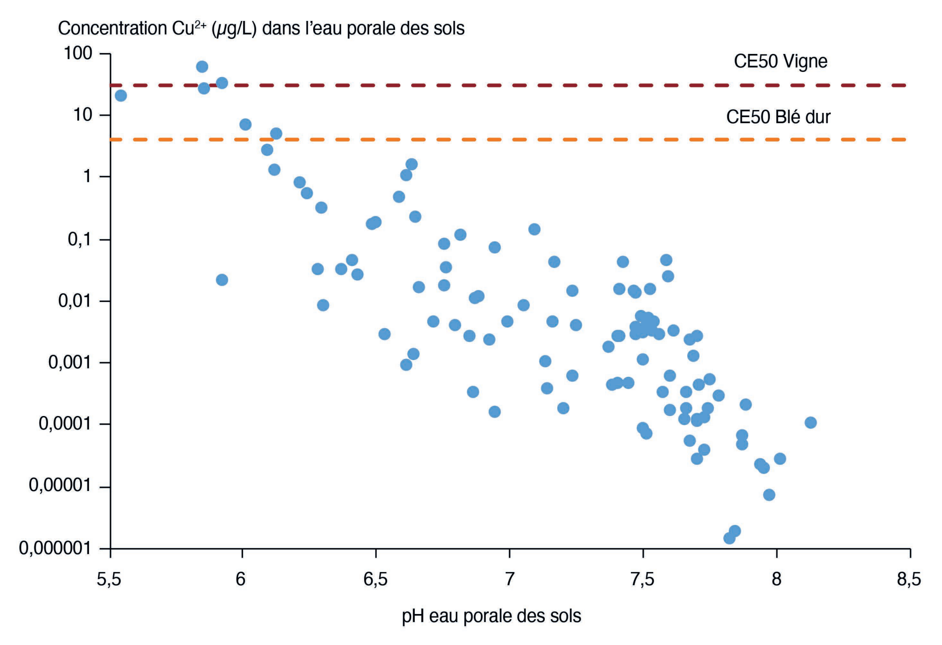


Figure 2.7. Comparaison entre des seuils écotoxiques pour la vigne ou le blé dur et les concentrations en Cu^{2+} mesurées dans l'eau porale de sols viticoles issus de différents vignobles français (d'après Ouédraogo *et al.*, 2022 ; Blondel, 2021).

Organismes telluriques

Le cuivre peut avoir des effets négatifs sur les organismes du sol constituant la méso ou microfaune ainsi que la microflore. À forte concentration, cet élément

peut impacter la survie des organismes. À plus faible concentration, des effets ont été observés sur la reproduction ou la croissance des vers de terre, des enchytrées et des collemboles (Sørensen et Holmstrup, 2005 ; Ruyters *et al.*, 2013). La reproduction s'avère être le paramètre le plus sensible à la contamination. Des effets génotoxiques et cytotoxiques ont été observés et semblent variables selon les espèces, le temps d'exposition et les formes chimiques du cuivre apporté (Wang *et al.*, 2018). Le comportement des organismes est aussi impacté par la contamination cuprique. Il a clairement été montré que les vers de terre et les enchytrées avaient des stratégies d'évitement des zones les plus contaminées (Bart *et al.*, 2017). Certaines espèces sont plus tolérantes que d'autres, comme cela a été observé chez les enchytrées *Enchytraeus albidus* et *Enchytraeus luxurious* (de Barros Amorim *et al.*, 2005) ou les collemboles *Folsomia candida*, *Sinella communis* et *Proisotoma minuta* (Greenslade et Vaughan, 2003). En conséquence, la biodiversité varie avec le niveau de contamination. L'abondance et la diversité des organismes du sol sont aussi affectées par les niveaux de biodisponibilité du cuivre.

Une récente synthèse de l'impact écotoxique du cuivre sur la biodiversité tellurique, et les échanges scientifiques qui en ont suivi, ont conclu « qu'une dose de 4 kg/ha/an ne présente pas de risque à court terme pour la biodiversité des sols dans certains vignobles mais pourrait constituer une menace dès à présent dans les vignobles les plus vulnérables (forte accumulation historique, conditions spécifiques de pH et de matière organique des sols) » (Karimi *et al.*, 2021 ; Imfeld *et al.*, 2021). En effet, ce n'est pas la dose du cuivre apporté, mais bien sa disponibilité, dépendant du pH, de la teneur en matières organiques des sols (et autres phases sorbantes) et de la teneur totale en cuivre, qu'il faut considérer. Cependant, les seuils de toxicité pour les espèces telluriques sont généralement exprimés en fonction de teneurs de cuivre total et non de valeurs de disponibilité.

D'autre part, la plupart des évaluations des seuils écotoxicologiques sont réalisées en laboratoire, avec des espèces modèles, comme le ver du fumier *Eisena fetida*, qui ne se retrouvent pas dans les sols viticoles. Nous manquons de références sur les espèces effectivement présentes dans les milieux. Ces biotests sont souvent de courte durée et la forme chimique du cuivre employée dans ces études conduit à surestimer les résultats (Chapman *et al.,* 2003). Par exemple, il a été observé que, contrairement à différentes formulations commerciales d'oxychlorure de cuivre ou de bouillie bordelaise, les sels de cuivre diminuaient le pH, ce qui peut augmenter la disponibilité du métal (Vázquez-Blanco *et al.*, 2020).

L'utilisation de sols artificiels tend à surestimer la biodisponibilité du métal comparé à un sol naturel (Spurgeon et Hopkin, 1995). La biodisponibilité diminue également en fonction du temps écoulé après l'apport de cuivre, par un phénomène appelé « vieillissement », qui correspond au changement de spéciation du métal et à son adsorption progressive sur les phases solides (Daoust *et al*, 2006 ; Ruyters *et al.*, 2013). Par conséquent, cela conduit à des valeurs de toxicité très diverses. Le tableau 2.4 récapitule les valeurs seuils de CE50 et NOEC retrouvées

chez divers auteurs pour des teneurs de cuivre total dans les sols. Ces seuils sont très variables d'un sol à l'autre et cette variabilité s'explique dans de nombreux cas par la teneur en matière organique ou en oxydes, la CEC et le pH des sols utilisés. Des équations ont ainsi pu être déterminées à partir de ces paramètres du sol pour prédire les NOEC ou CE10 et CE50 pour certains organismes du sol (Criel *et al.,* 2008).

Tableau 2.4. Quelques seuils écotoxiques mentionnés dans la littérature pour les organismes de la mésofaune du sol.

Ce tableau présente les valeurs minimales et maximales retrouvées pour les différents sols testés dans les publications, exprimées en mg Cu/kg de sol (NA = non analysé).

Organisme	Critère	NOEC mg Cu/kg sol	CE50 mg Cu/kg sol	Références
Nématodes	Survie	NA	413-1061	Donkin et Dusenbery, 1993
Collemboles	Reproduction	< 23-922	45-2270	Criel *et al.*, 2008
	Reproduction	< 10-320	102-662	de Barros Amorim *et al.*, 2005[16]
	Mortalité	10 → 1000	75 → 1000	
Enchytrées	Reproduction	100 → 320	122 → 320	
	Mortalité	> 320	> 320	
Ver du fumier (*Eisenia fetida*)	Reproduction	54-328	72-778	Criel *et al.*, 2008
	Mortalité	NA	335-6190	Daoust *et al.*, 2006

Pour les micro-organismes du sol, la respiration, l'abondance et la diversité sont affectées par la contamination en cuivre (Scott-Fordsmand *et al.*, 2000 ; de Barros Amorim *et al.*, 2005 ; Fernández-Calviño *et al.*, 2010). Les communautés fongiques semblent plus tolérantes que les communautés bactériennes, leur croissance étant affectée à des doses plus élevées (Vázquez-Blanco *et al.*, 2020). Les activités enzymatiques des communautés microbiennes sont perturbées par l'excès de cuivre (Fernández-Calviño *et al.*, 2010 ; Mackie *et al.*, 2013), modifiant ainsi le fonctionnement des sols. Les activités enzymatiques semblent être les paramètres les plus sensibles pour rendre compte d'un effet sur les communautés microbiennes des sols. Pour tous ces paramètres, là encore, la dose induisant un effet varie très fortement selon les sols.

Bien que la croissance et la structure des communautés microbiennes soient négativement impactées par la présence de cuivre, le pH apparaît un facteur clef dans la composition de ces communautés et leur résistance face au cuivre (Vázquez-Blanco *et al.*, 2020). D'autres facteurs semblent aussi jouer un rôle non négligeable sur la tolérance des communautés microbiennes au cuivre, comme le taux de carbone organique (Soler-Rovira *et al.*, 2013) ou encore la texture du sol. Il paraît

16. Ces auteurs ayant comparé des seuils obtenus immédiatement après la contamination (3 jours) et des seuils obtenus après une période de « vieillissement » de 70 jours, nous avons préféré présenter ces dernières valeurs, plus réalistes.

donc pertinent de ne pas raisonner par rapport à la teneur totale en cuivre mais bien par rapport à la teneur disponible. Ces références manquent actuellement.

Gestion agronomique de la disponibilité

Méthodes de suivi de la disponibilité

La disponibilité environnementale du cuivre dans un sol s'évalue le plus souvent *via* une analyse de terre en utilisant des réactifs d'extraction chimique (eau, sels neutres, combinaison de sels et d'acides de force variable) qui mobilisent préférentiellement les éléments présents dans la solution de sol et dans le compartiment échangeable de la phase solide du sol. Aujourd'hui, le protocole le plus couramment utilisé pour évaluer la disponibilité de cuivre dans un sol est l'extraction en présence d'EDTA (éthylène diamine tétraacétique acid) (NF X31-120). En théorie, l'utilisation de molécules chélatantes telles que l'EDTA permet d'extraire efficacement le cuivre de la phase solide et d'estimer ainsi la capacité du sol à renouveler le cuivre dans la solution. L'interprétation de l'analyse de terre repose sur l'acquisition de références qui permettent de connaître la disponibilité « critique » du cuivre dans le sol, séparant les situations « normales » des situations « à risque de toxicité cuprique ».

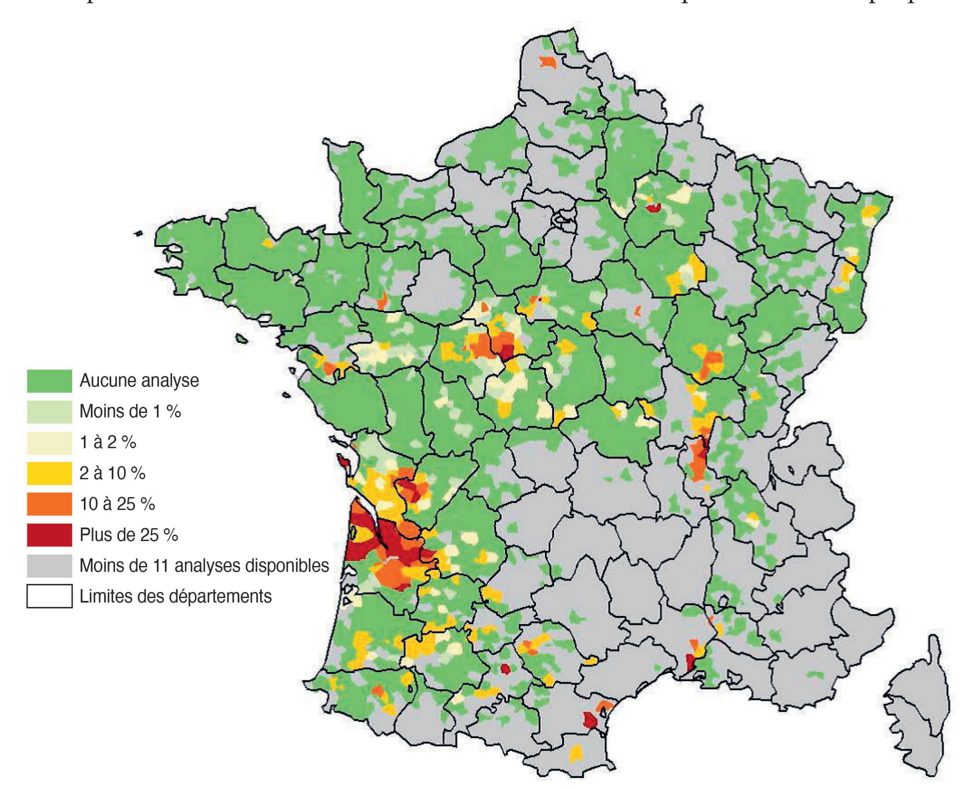


Figure 2.8. Pourcentage des valeurs de Cu_{EDTA} > 60 mg/kg par rapport au nombre d'analyses disponibles par canton (Baize *et al.*, 2006). Cette carte est tirée de la base de données des analyses de terres (BDAT).

Pour les sols viticoles, il semblerait qu'un seuil critique de disponibilité de cuivre soit utilisé par certains laboratoires d'analyses pour l'interprétation des teneurs en cuivre extrait à l'EDTA, et fixé à 60 mg/kg sans qu'il n'ait été possible de savoir précisément sur quels travaux ce seuil se fondait. Un exemple de cartographie de risque de toxicité cuprique est présenté en figure 2.8. La carte présente en rouge les cantons à fort risque de toxicité du cuivre pour lesquels plus de 25 % des analyses de terres présentent des valeurs de Cu_{EDTA} supérieures au seuil critique de 60 mg/kg. Ces cantons à risque correspondent le plus souvent à des cantons viticoles.

Parce que la matière organique, qu'elle soit solide ou en solution, conditionne fortement la disponibilité du cuivre dans le sol, il est souvent admis que le rapport entre la teneur en cuivre extraite à l'EDTA et la teneur en matière en organique du sol est l'indicateur le plus pertinent du risque de toxicité cuprique. Ainsi, un sol avec un ratio Cu_{EDTA}/MO supérieur à 30 serait à risque de toxicité cuprique pour les céréales à paille (Braun, 2019) – ce qui serait le cas par exemple d'un sol de vigne de Cu_{EDTA} = 60 mg kg^{-1} dont la teneur en MO serait inférieure à 2 %.

Estimer la disponibilité du cuivre à partir de réactifs d'extraction est un rêve de chimiste et la valeur prédictive de ce type d'indicateurs reste très perfectible. La figure 2.9 montre, par exemple, qu'en sols viticoles le cuivre extrait à l'EDTA est étroitement corrélé au cuivre total du sol extrait à l'eau régale[17]. La valeur prédictive du cuivre extrait à l'EDTA en termes de disponibilité dans le sol ne serait donc pas supérieure à celle du cuivre total, en contexte viticole. Ceci est peut-être dû à la source de contamination cuprique de ces sols, le cuivre apporté *via* les traitements fongicides étant *a priori* très facilement mobilisable par l'EDTA.

Aussi, en marge de ces méthodes d'extraction se développent des méthodes alternatives d'évaluation de la disponibilité du cuivre et des autres éléments traces dans le sol, parmi lesquelles les capteurs passifs dont la DGT pour « gradient diffusif en couche mince ». Cette méthode repose sur un dispositif accumulateur disposé à la surface d'un échantillon de terre ou directement dans un sol et accumulant le cuivre au prorata de sa concentration ionique en solution et de la capacité de réapprovisionnement à partir de la phase solide. Cette méthode intègre plus de processus du transfert sol-plante que de simples d'extractions et ses capacités prédictives s'avèrent souvent supérieures, notamment pour le cuivre (Zhang *et al.*, 2001). Elle a aussi l'avantage d'intégrer les fluctuations sur une durée et donc de prendre en compte la variabilité temporelle de la disponibilité. Par ailleurs, un biotest normalisé utilisant des plantes (ISO 16198), souvent nommé RHIZOtest (Bravin *et al.*, 2010b), permet d'intégrer un ensemble de processus encore plus large que la DGT intervenant dans le transfert sol-plante et notamment la bio-influence des racines (autrement appelé effet rhizosphère). Le RHIZOtest, tout comme la DGT, relève toutefois encore davantage du domaine de la recherche

---

17. L'eau régale est un mélange d'acides nitrique et chlorhydrique utilisé pour dissoudre les constituants présents dans les sols afin d'en faire une analyse élémentaire. Cependant, ce réactif n'est pas capable de dissoudre les silicates. On parle d'analyse « pseudo-totale » lorsque l'on utilise ce réactif.

que de la pratique. Avant d'être diffusées, ces méthodes nécessitent d'être validées dans des contextes viticoles contrastés afin que nous acquérions, au moins pour le cuivre, des valeurs de références robustes permettant d'identifier les sols à risque de toxicité cuprique.

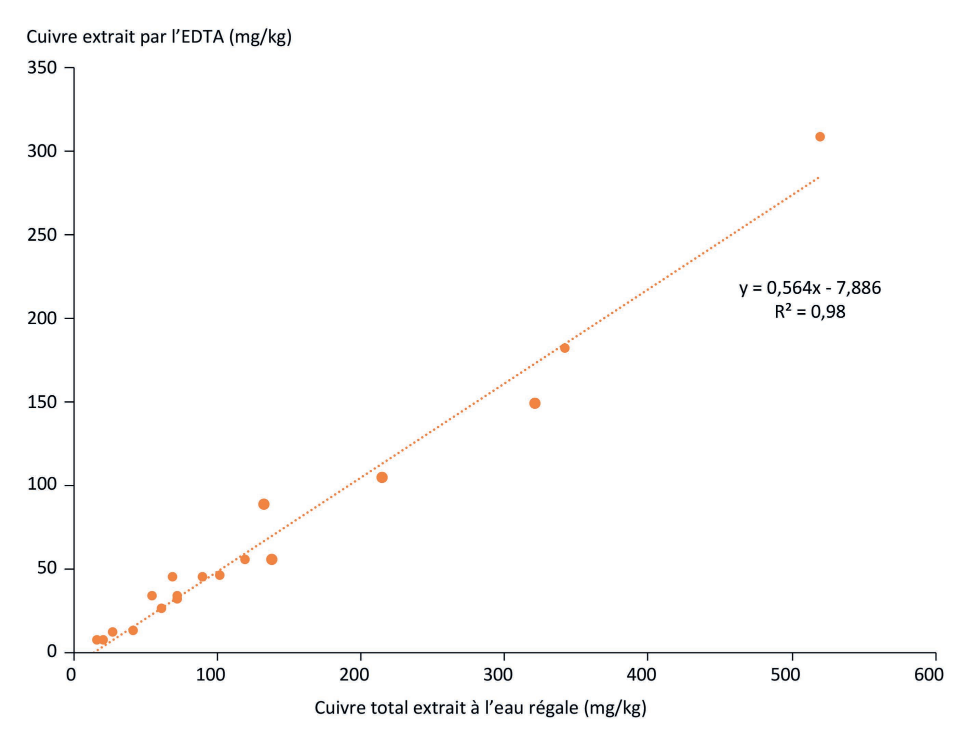


Figure 2.9. Relation entre le cuivre extrait par l'EDTA (méthode NF X31-120) et le cuivre total extrait à l'eau régale (méthode ISO 11466) pour des sols viticoles provenant de différentes régions françaises.

Quels leviers agronomiques pour contenir la disponibilité du cuivre ?

Contenir la disponibilité de cuivre passe par le fait de limiter au maximum les apports de fongicides à base de cuivre dans les parcelles de vigne à risque de toxicité cuprique. Toutefois, même si la quantité de cuivre apporté par ces fongicides a nettement diminué depuis une centaine d'années, il est difficile d'envisager à moyen terme de remplacer complètement le cuivre en viticulture (Andrivon *et al.*, 2017), notamment en viticulture biologique où l'utilisation de fongicides de synthèse est interdite. Il convient donc, dans ces parcelles à risque, de contenir la disponibilité du cuivre dans le sol *via* d'autres leviers agronomiques, notamment grâce à une bonne gestion du pH et de la teneur en matière organique du sol (Brunetto *et al.*, 2016).

Relever et/ou maintenir par chaulage (par apport au sol d'amendement calcique ou calco-magnésien) le pH du sol au-dessus de 6,5 est un moyen efficace pour contenir la disponibilité du cuivre dans le sol car l'adsorption de cet élément

sur la phase solide du sol et la complexation du cuivre par la matière organique en solution sont favorisées à pH élevé. Le chaulage a permis de régler dans les années 1960 le problème de toxicité cuprique sur jeunes plants de vigne observé dans les sols de graves, naturellement très acides (pH < 5), du vignoble bordelais (Delas, 1963).

Notons que le chaulage doit être bien maîtrisé afin que le pH du sol ne soit pas trop élevé (c'est-à-dire qu'il reste inférieur à 7,5) et n'induise une déficience en certains oligoéléments, notamment en fer. Ceci est particulièrement important dans les sols viticoles calcaires où la présence de cuivre en excès serait susceptible d'augmenter le risque de carence en fer (Michaud *et al.,* 2008), mais potentiellement aussi dans les horizons de surface des sols surchaulés.

Enrichir le sol par l'apport d'amendements organiques est probablement le moyen le plus efficace pour contenir la disponibilité du cuivre dans les sols, sous réserve que ces amendements soient peu chargés en cuivre. Cet effet « protecteur » des amendements organiques pour les organismes du sol s'explique avant tout par la capacité de la MO solide à sorber le cuivre sur la phase solide du sol et à celle de la MO dissoute à complexer le cuivre en solution. Il tient aussi, en contexte acide, à leurs propriétés alcalinisantes (Laurent *et al.*, 2020). L'apport de matière organique permet ainsi de corriger des situations de toxicité cuprique. La figure 2.10 montre qu'un apport de compost en surface peut limiter la toxicité cuprique et favoriser la croissance du blé dur sur un sol à antécédent viticole (Braun, 2019). L'auteur ajoute que l'effet « protecteur » de la MO vis-à-vis du cuivre semble davantage s'exprimer lorsque la matière organique n'est pas diluée par le labour. Le labour, notamment le labour profond, a d'ailleurs tendance à favoriser la minéralisation rapide de la matière organique et à augmenter les transferts vers la profondeur (Pierdet, 2020).

La phytoremédiation est parfois évoquée comme moyen de contenir les effets délétères de l'excès de cuivre en sols viticoles (Mackie *et al.,* 2012). Les systèmes viticoles sont des systèmes dans lesquels la culture de plantes de service est relativement aisée, que ce soit dans l'inter-rang ou en période de jachère. Mais quels services peuvent rendre ces cultures dites « de service » vis-à-vis de la problématique cuivre ? Ce qui semble faire consensus est que l'enherbement ou l'implantation d'engrais verts dans l'inter-rang permet de limiter les transferts latéraux (érosion éolienne et hydrique) et verticaux (lessivage et lixiviation) de cuivre, et ainsi de limiter la dissémination du cuivre vers les aquifères et les agroécosystèmes adjacents. Ces plantes de service seraient également susceptibles d'offrir une protection rhizosphérique aux organismes du sol (Cesco *et al.,* 2021) par la baisse locale de la disponibilité du cuivre dans leur rhizosphère issue de l'activité des racines. Pour bien jouer leur rôle, ces plantes de service pourraient être sélectionnées, en matière d'espèces et de variétés, pour leur capacité à tolérer le cuivre excédentaire des sols de vigne.



Figure 2.10. Impact de l'apport de compost en surface sur la toxicité du cuivre sur céréale à pailles dans un sol à antécédent viticole (© ARVALIS-Institut du végétal).

Ce qui est plus sujet à caution est que des plantes de service pourraient extraire des quantités de cuivre assez importantes pour alléger la charge en cuivre des sols viticoles. La phytoextraction de cuivre se heurte en effet à deux limites majeures qui freinent sa mise en place en viticulture : 1) la contamination en cuivre des sols de vigne – même si problématique pour la pérennité des agroécosystèmes viticoles – reste modérée comparée à la contamination métallique des sols dans lesquels la phytoextraction, par exemple de nickel, s'avère efficace, et 2) à notre connaissance, aucune plante terrestre hyperaccumulatrice de cuivre, c'est-à-dire capable d'accumuler plus de 300 mg Cu kg^{-1} dans ses organes aériens, n'a à ce jour été identifiée, alors qu'il existe de nombreuses plantes hyperaccumulatrices de nickel, de zinc ou cadmium. Phytoextraire ne serait-ce qu'1 kg Cu/ha/an ne semble à ce jour pas aisé en contexte viticole (Cornu *et al.*, 2020), ce qui semble peu au regard des quantités de cuivre apportées annuellement par le biais des traitements fongicides à base de cuivre.

Le cuivre reste actuellement le moyen le moins problématique pour lutter le plus naturellement possible contre le mildiou

Le cuivre, utilisé à doses très modérées comme aujourd'hui, est un fongicide multisite d'intérêt, neutralisé par la matière organique du sol, en attente tout au moins d'autres solutions alternatives à celles des traitements phytosanitaires de synthèse.

La prise de conscience écologique qui a amené des producteurs à s'affranchir des molécules chimiques de synthèse en vogue à partir des années 1950 les a conduits à établir les bases de l'agriculture biologique, en revenant aux fondamentaux de l'agronomie.

Leur volonté de respecter autant que possible les cycles du vivant leur a permis de progresser dans les connaissances scientifiques et de limiter graduellement les doses de cuivre employées. Cet apprentissage s'est fait en réduisant d'abord les doses de cuivre à chaque traitement, suite au constat que le lessivage après 20 mm de pluie environ nécessitait un renouvellement de protection, quelle que soit la dose employée préalablement.

En établissant en 2006 une dose de 6 kg/ha/an en moyenne sur cinq années, la réglementation de l'agriculture biologique validait cette baisse de huit à dix fois des doses employées jusqu'à l'arrivée des molécules de synthèse. Elle validait également une baisse de 40 % par rapport à la dose permise en agriculture conventionnelle (10 kg/ha/an).

En tant que vigneron biologique en Champagne, dans une région soumise régulièrement aux influences océaniques, 4 kg/ha est la dose que j'ai utilisée en moyenne de 2012 à 2017, soit exactement la moyenne qui est ressortie en 2018 de notre enquête sur les usages des vignerons bio champenois. Si, pour la plupart de ces années, je n'ai pas eu besoin de 4 kg/ha, en 2012 et 2016, il m'a néanmoins fallu renouveler davantage mes protections cupriques lessivées par des épisodes pluvieux à répétition et dépasser cette dose de 4 kg/ha, sans atteindre toutefois celle de 6 kg/ha en moyenne autorisée à cette époque.

Le lissage pluriannuel des doses pratiquées par les vignerons bio a montré son efficacité pour baisser la dose moyenne, tout en permettant de répondre plus efficacement à des conditions climatiques exceptionnelles. Mais cette pratique empirique n'a jamais été évaluée par les agences chargées de l'estimation des risques liés à l'usage des matières actives.

En n'ayant pas statué sur ce principe de lissage au niveau politique lors de la ré-autorisation du cuivre en 2018, les ministres européens ont laissé aux agences nationales la tâche de décider de cette possibilité de lissage, sans en avoir construit au préalable les outils et expérimentations nécessaires à l'appréciation de ce mode d'utilisation. Dans cette optique de redéfinition des futures AMM, nous notons avec satisfaction que les usages et les limites d'utilisation sur le terrain, souvent validés par l'empirisme des vignerons, ont été repris par l'Anses dans le rapport de l'auto-saisine qu'elle a rendu public en 2022.

Nous espérons que les essais entrepris par les fabricants de produits cupriques depuis deux ou trois saisons pour estimer l'impact du cuivre avec un protocole incluant une variabilité annuelle permettront de considérer favorablement cet usage de bon sens lors de la prochaine évaluation du cuivre en 2025.

Le cuivre est un héritage du passé, que les viticultures biologiques et de préservation des sols sont les plus adaptées à gérer aujourd'hui pour éviter sa diffusion dans l'environnement. Nous voyons bien par la pratique des couverts végétaux et des engrais verts que nos sols champenois sont très résilients et ne montrent pas d'effet notable du cuivre sur ceux-ci. Nous pensons que les doses maintenant utilisées sont certainement très proches de celles que des sols vivants peuvent neutraliser annuellement par captation par la matière organique produite ou apportée.

Le cuivre n'est pas pour moi la solution définitive contre le mildiou ; son usage en doses modérées n'est pas possible sans l'acceptation préalable de risques de perte de récolte, tant son efficacité à ces doses est loin de l'idée d'un traitement « d'assurance ». Mais il reste le moyen le moins problématique pour poursuivre le plus naturellement possible cette culture de la vigne.

Les moyens de protection complémentaires que nous cherchons à travers l'usage de plantes et de minéraux ne nous permettent pas de nous affranchir du cuivre. En année à faible pression, ils permettent d'améliorer un peu l'efficacité du cuivre, mais en année à pression forte, ils sont notoirement insuffisants, comme l'année 2021 vient encore de nous le montrer.

Les nouvelles règles imposées pour les pulvérisations aux abords des habitations laissent la possibilité d'utiliser du cuivre. En Champagne, qui est l'une des régions largement concernées par ces distances de sécurité, les vignerons conventionnels expérimentent ainsi, par obligation, des parcours de protection sans pesticides de synthèse. Je vois parmi eux maintenant un nouveau regard sur nos pratiques biologiques et je constate que les nouvelles conversions bio ont suivi en corrélation une belle courbe de progression. L'usage modéré du cuivre, avec son mode d'action multisite sans génération de résistances, montre ainsi toute son efficacité pour limiter l'usage des molécules de synthèse, notamment celles classées CMR et PE. Il permet aussi de préserver la valeur du foncier viticole autour de nos villages.

J'espère fermement que nous trouverons d'autres moyens à l'avenir pour renforcer la résistance de nos cépages, afin de nous affranchir en grande partie de cette pression permanente que nous subissons pour préserver nos récoltes.

Témoignage de Pascal Doquet, président de l'Association des Champagnes biologiques, référent à la FNAB pour le dossier du cuivre.

Conclusion et perspectives

L'historique de l'usage du cuivre en viticulture, sur plus d'une centaine d'années, a conduit à une contamination des sols viticoles pouvant atteindre des niveaux élevés. Le cuivre, qui a une forte affinité pour la matière organique, s'accumule en surface et peut être incorporé en profondeur lors des labours. Il peut avoir des effets délétères pour les plantes et organismes du sol. Nous manquons de références permettant de définir des seuils de toxicité, sur la base d'indicateurs de la (bio)disponibilité environnementale, et ce pour une large gamme d'organismes réellement présents dans les sols, ce qui est indispensable pour construire une réglementation protectrice des sols vivants.

Il apparaît essentiel de gérer cet héritage en limitant la disponibilité de cet élément par des méthodes agronomiques pour éviter les effets toxiques, et en parallèle de réduire au maximum son usage notamment dans les sols déjà fortement contaminés.

L'apport de matières organiques exogènes est généralement bénéfique à la santé des sols. Cependant, leur rôle est encore à mieux comprendre, notamment pour identifier les matières organiques les plus complexantes qui permettraient de

« bloquer » sur le long terme le cuivre sous une forme peu mobile et peu disponible pour les organismes vivants.

Des suivis *in situ* de cette disponibilité nous permettraient de mieux comprendre les effets des pratiques agricoles et des conditions climatiques pour pouvoir conseiller les meilleures pratiques à adopter pour une viticulture durable.

Références bibliographiques et numériques

Adriano D.C., 2001. *Trace elements in terrestrial environments. Biogeochemistry, bioavailability, and risks of metals*. New York : Springer (2nd ed.), 867 p.

Anatole-Monnier L., 2014. *Effets de la contamination cuprique des sols viticoles sur la sensibilité de la vigne à un cortège de bioagresseurs*. Thèse de doctorat (écologie et environnement), université de Bordeaux. https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-01198938/file/MONNIER_LAETITIA_2014.pdf.

Andrivon D., Bardin M., Bertrand C., Brun L., Daire X., Fabre F. *et al.*, 2017. *Peut-on se passer du cuivre en protection des cultures biologiques* ? Synthèse du rapport d'expertise scientifique collective. Paris : INRA, 66 p. https://www.inrae.fr/sites/default/files/pdf/expertise-cuivre-en-ab-synthese-francais-1.pdf.

Arenas-Sánchez A., Rico A., Rivas-Tabares D., Blanco A., Garcia-Doncel P., Romero-Salas A. *et al.*, 2019. Identification of contaminants of concern in the upper Tagus river basin (central Spain). Part 2 : Spatio-temporal analysis and ecological risk assessment. *Science of the Total Environment* 667, 222-233. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.02.286.

Babcsányi I., Chabaux F., Granet M., Meite F., Payraudeau S., Duplay J. *et al.*, 2016. Copper in soil fractions and runoff in a vineyard catchment : insights from copper stable isotopes. *Science of the Total Environment* 557-558, 154-162. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.03.037.

Baize D., 1997. *Teneurs totales en éléments traces métalliques dans les sols (France)*. Paris : Inra, 410 p.

Baize D., Saby N., Walter C., 2006. Le cuivre extrait à l'EDTA dans les sols de France : probabilités de carences et de toxicités selon la BDAT. *Étude et Gestion des Sols* 13(4), 259-268.

Ballabio C., Panagos P., Lugato E., Huang J.H., Orgiazzi A., Jones A. *et al.*, 2018. Copper distribution in European topsoils : an assessment based on Lucas soil survey. *Science of the Total Environment* 636, 282-298. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.04.268.

Banas D., Marin B., Skraber S., Chopin E.I.B., Zanella A., 2010. Copper mobilization affected by weather conditions in a stormwater detention system receiving runoff waters from vineyard soils (Champagne, France). *Environmental Pollution* 158, 476-482. https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S026974910900428X?via%3Dihub.

Bart S., Laurent C., Péry A.R.R., Mougin C., Pelosi C., 2017. Differences in sensitivity between earthworms and enchytraeids exposed to two commercial fungicides. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 140, 177-184. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.02.052.

Besnard E., Chenu C., Robert M., 2001. Influence of organic amendments on copper distribution among particle-size and density fractions in Champagne vineyard soils. *Environmental Pollution* 112(3), 329-337. https://doi.org/10.1016/S0269-7491(00)00151-2.

Besnard E, Folkert F. van Oort, Jongmans T., 2002. *Amendements organiques, distribution du cuivre et structure des sols en Champagne : les éléments traces métalliques dans les sols. Approches fonctionnelles et spatiales*. Paris : INRA, 566 p. (coll. Un point sur).

Blondel P., 2021. *Analyse de la contamination en cuivre de sols viticoles cultivés en agriculture biologique*. Master 2, université de Bordeaux.

Branas J., 1984. Histoire et fonction du cuivre dans la viticulture de qualité. *Le Progrès agricole et viticole* 22, 521-523.

Braun P., 2019. Cuivre : de la carence à la toxicité. *Perspectives agricoles* 464, 49-51.

Bravin M., 2007. *Processus rhizosphériques déterminant la biodisponibilité du cuivre pour le blé dur cultive en sols à antécédent viticole*. Thèse de doctorat, Montpellier SupAgro, 203 p.

Bravin M.N., Garnier C., Lenoble V., Gérard F., Dudal Y., Hinsinger P., 2012. Root-induced changes in pH and dissolved organic matter binding capacity affect copper dynamic speciation in the rhizosphere. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 84, 256-268. https://doi.org/10.1016/j.gca.2012.01.031.

Bravin M.N., Le Merrer B., Denaix L., Schneider A., Hinsinger P., 2010a. Copper uptake kinetics in hydroponically grown durum wheat (*Triticum turgidum durum* L.) as compared with soil's ability to supply copper. *Plant and Soil* 331, 91-104. https://doi.org/10.1007/s11104-009-0235-3.

Bravin M.N., Michaud A., Laravi B., Hinsinger P., 2010b. RHIZOtest : a plant-based biotest to account for rhizosphere processes when assessing copper bioavailability. *Environmental Pollution*, 158(10), 3330-3337. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2010.07.029.

Brun L.A., Maillet J., Richarte J., Herrmann P., Remy J.C., 1998. Relationships between extractable copper, soil properties and copper uptake by wild plants in vineyard soils. *Environmental Pollution* 102(2-3), 151-161.

Brunetto G., Bastos de Melo G.W., Terzano R., Del Buono D., Astolfi S., Tomasi N. *et al.*, 2016. Copper accumulation in vineyard soils : rhizosphere processes and agronomic practices to limit its toxicity. *Chemosphere* 162, 293-307. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.07.104.

CE (Commission européenne), 2018. *Règlement d'exécution (UE) 2018/1981 de la Commission du 13 décembre 2018 renouvelant l'approbation des substances actives « composées de cuivre » comme substances dont on envisage la substitution, conformément au règlement (CE) n° 1107/2009 du Parlement européen et du Conseil concernant la mise sur le marché des produits phytopharmaceutiques, et modifiant l'annexe du règlement d'exécution (UE) n° 540/2011 de la Commission (Texte présentant de l'intérêt pour l'EEE)*. https://eur-lex.europa.eu/legal-content/FR/TXT/?uri=CELEX%3A32018R1981#:~:text=R%C3%A8glement%20d'ex%C3%A9cution%20(UE),sur%20le%20march%C3%A9%20des%20produits.

Cesco S., Pii Y., Borruso L., Orzes G., Lugli P., Mazzetto F. *et al.*, 2021. A smart and sustainable future for viticulture is rooted in soil : how to face Cu toxicity. *Applied Sciences*, 11(3), 907. https://doi.org/10.3390/app11030907.

Chapman P.M., Wang F., Janssen C.R., Goulet R.R., Kamunde C.N., 2003. Conducting ecological risk assessments of inorganic metals and metalloids : current status. *Human and Ecological Risk Assessment* 9(4), 641-697. https://doi.org/10.1080/713610004.

Chopin E.I.B., Marin B., Mkoungafoko R., Rigaux A., Hopgood M.J., Delannoy E. *et al.*, 2008. Factors affecting distribution and mobility of trace elements (Cu, Pb, Zn) in a perennial grapevine (*Vitis vinifera* L.) in the Champagne region of France. *Environmental Pollution* 156(3), 1092-1098. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2008.04.015.

Cornu J.Y., 2017, Biogéochimie des oligoéléments. *In* Colomb B. (dir.), *Guide de la fertilisation raisonnée*. Paris : Éditions France Agricole (2e éd.), 606 p., 163-184.

Cornu J.Y., Lebeau T., Waterlot C., 2020. Phytoextraction du cuivre : intérêt et limites à sa mise en œuvre en viticulture. *Revue des œnologues et des techniques vitivinicoles et œnologiques* 177, 35-37.

Criel P., Lock K., Van Eeckhout H., Oorts K., Smolders E., Janssen C.R., 2008. Influence of soil properties on copper toxicity for two soil invertebrates. *Environmental Toxicology and Chemistry* 27(8), 1748-1755. https://doi.org/10.1897/07-545.1.

Daoust C.M., Bastien C., Deschênes L., 2006. Influence of soil properties and aging on the toxicity of copper on compost worm and barley. *Journal of Environmental Quality* 35(2), 558-567.

de Barros Amorim M.J., Römbke J., Schallnaß H.J., Soares A.M.V.M., 2005. Effect of soil properties and aging on the toxicitéy of copper for *Enchytraeus albidus*, *Enchytraeus luxuriosus* and *Folsomia candida*. *Environmental Toxicology and Chemistry* 24(8), 1875-1885. https://doi.org/10.1897/04-505R.1.

Delas J., 1963. La toxicité du cuivre accumulé dans les sols. *Agrochimica* 7, 258-288.

Djae T., Bravin M.N., Garnier C., Doelsch E., 2016. Parameterizing the binding properties of dissolved organic matter with default values skews the prediction of copper solution speciation and ecotoxicity in soil. *Environmental Toxicology and Chemistry* 36, 898-905. https://doi.org/10.1002/etc.3622.

Donkin S.G., Dusenbery D.B., 1993. A soil toxicity test using the nematode Caenorhabditis elegans and an effective method of recovery. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 25, 145-151. https://doi.org/10.1007/BF00212125.

Fernández-Calviño D. Soler-Rovira P., Polo A., Díaz-Raviña M., Arias-Estévez M., Plaza C., 2010. Enzyme activities in vineyard soils long-term treated with copper-based fungicides. *Soil Biology and Biochemistry* 42(12), 2119-2127. https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2010.08.007.

Flores-Vélez L.M., Ducaroir J., Jaunet A.M., Robert M., 1996. Study of the distribution of copper in an acid sandy vineyard soil by three different methods. *European Journal of Soil Science* 47(4), 523-532.

Garcia O., 2004. *Accumulation du cuivre dans quelques sols viticoles du Languedoc-Roussillon et seuil de toxicité sur vigne*. Mémoire de DAA, ENSA-M (Montpellier), 31 p.

Greenslade P., Vaughan G.T., 2003. A comparison of Collembola species for toxicity testing of australian soils. *Pedobiologia* 47(2), 171-179. https://doi.org/10.1078/0031-4056-00180.

Imfeld G., Duplay J., Payraudeau S., 2021. Commentaires sur l'article de Karimi *et al.* (2021), *Études et Gestion des Sols* 28,71-92. hal-03498086.

Juang K.W., Lee Y.I., Lai H.Y., Wang C.H., Chen B.C., 2012. Copper accumulation, translocation, and toxic effects in grapevine cuttings. *Environmental Science and Pollution Research* 19, 1315-1322.

Kader M., Lamb D.T., Wang L., Megharaj M., Naidu R., 2016. Predicting copper phytotoxicity based on pore-water pCu. *Ecotoxicology* 25, 481-490. https://doi.org/10.1007/s10646-015-1605-7.

Karimi B., Masson V., Guilland C., Leroy E., Pellegrinelli S., Giboulot E. *et al.*, 2021. La biodiversité des sols est-elle impactée par l'apport de cuivre ou son accumulation dans les sols vignes ? Synthèse des connaissances scientifiques. *Étude et Gestion des Sols* 28, 71-92. https://www.afes.fr/wp-content/uploads/2021/01/EGS_2021_28_Karimi_71-92.pdf.

Kolbas A., Marchand L., Herzig R., Nehnevajova E., Mench M., 2014. Phenotypic seedling responses of a metal-tolerant mutant line of sunflower growing on a Cu-contaminated soil series : potential uses for biomonitoring of Cu exposure and phytoremediation. *Plant and Soil* 376(1-2), 377-397. http://www.jstor.org/stable/42953119.

Laurent C., Bravin M.N., Crouzet O., Pelosi C., Tillard E., Lecomte P. *et al.*, 2020. Increased soil pH and dissolved organic matter after a decade of organic fertilizer application mitigates

copper and zinc availability despite contamination. *Science of The Total Environment* 709, 135927. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.135927.

Lock K., Janssen C.R., 2003. Influence of aging on copper bioavailability in soils. *Environmental Toxicology and Chemistry* 22, 1162-1166.

Mackie K.A., Muller T., Kandeler E., 2012. Remediation of copper in vineyards – A mini review. *Environmental Pollution* 167, 16-26.

Mackie K.A., Müller T., Zikeli S., Kandeler E., 2013. Long-term copper application in an organic vineyard modifies spatial distribution of soil micro-organisms. *Soil Biology and Biochemistry* 65, 245-253. https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2013.06.003.

Martinez C.E., Mcbride M.B., 1999. Dissolved and labile concentrations of Cd, Cu, Pb, and Zn in aged ferrihydrite-organic matter systems. *Environmental Science & Technology* 33(5), 745-750. https://doi.org/10.1021/es980576c.

Masson M., Blanc G., Schäfer J., 2006. Geochemical signals and source contributions to heavy metal (Cd, Zn, Pb, Cu) fluxes into the Gironde Estuary *via* its major tributaries. *Science of the Total Environment* 370, 133-146. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2006.06.011.

Michaud A.M., Bravin M.N., Galleguillos M., Hinsinger P., 2007. Copper uptake and phytotoxicity as assessed *in situ* for durum wheat (*Triticum turgidum durum* L.) cultivated in Cu-contaminated, former vineyard soils. *Plant and Soil* 298, 99-111. https://doi.org/10.1007/s11104-007-9343-0.

Michaud A.M., Chappellaz C., Hinsinger P., 2008. Copper phytotoxicity affects root elongation and iron nutrition in durum wheat (*Triticum turgidum durum* L.). *Plant and Soil* 310, 151-165. https://doi.org/10.1007/s11104-008-9642-0.

Mirlean N., Roisenberg A., Chies J.O., 2007. Metal contamination of vineyard soils in wet subtropics (southern Brazil). *Environmental Pollution* 149(1), 10-17.

Ouédraogo F., Cornu J.C., Janot N., Nguyen C., Sourzac M., Parlanti É. *et al.*, 2022. Do DOM optical parameters improve the prediction of copper availability in vineyard soils ? *Environmental Science and Pollution Research* 29, 29268-29284. https://doi.org/10.1007/s11356-021-16361-5.

Ouzounidou G., Čiamporová M., Moustakas M., Karataglis S., 1995. Responses of maize (*Zea mays* L.) plants to copper stress. I. Growth, mineral content and ultrastructure of roots. *Environmental and Experimental Botany* 35(2), 167-176. https://doi.org/10.1016/0098-8472(94)00049-B.

Parat C., Chaussod R., Leveque J., Dousset S., Andreux F., 2002. The relationship between copper accumulated in vineyard calcareous soils and soil organic matter and iron. *European Journal of Soil Science* 53, 663-669. https://doi.org/10.1046/j.1365-2389.2002.00478.x.

Peijnenburg W.J.G.M., Posthuma L., Eijsackers H.J.P., Allen H.E., 1997. A conceptual framework for implementation of bioavailability of metals for environmental management purposes. *Ecotoxicology Environmental Safety* 37(2), 163-172.

Pierdet M., 2020. *Évolution spatiale et temporelle de la mobilité des contaminants organiques et inorganiques dans des sols viticoles contrastés*. Thèse de doctorat, université de Bordeaux, 368 p.

Regourd D., 2000. *Incidences du type de sol et des pratiques culturales sur des paramètres de qualité biologique des sols viticoles du Frontonnais*. Compte rendu ITV, 18 p.

Reuter D.J., Robinson J.B., 1997. *Plant analysis : an interpretation manual*. Melbourne : CSIRO publishing, 572 p.

Rooney C.P., Zhao F.J., McGrath S.P., 2006. Soil factors controlling the expression of copper toxicity to plants in a wide range of European soils. *Environmental Toxicology and Chemistry* 25(3), 726-732. https://doi.org/10.1897/04-602R.1.

Ruyters S., Salaets P., Oorts K. & Smolders E., 2013. Copper toxicity in soils under established vineyards in Europe : a survey. *Science of the Total Environment* 443, 470-477. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2012.11.001.

Sacristán D., Recatalá L., Viscarra Rossel R.A., 2015. Toxicity and bioaccumulation of Cu in an accumulator crop (*Lactuca sativa* L.) in different Australia agricultural soils. *Scientia Horticulturae* 193, 346-352.

Sauvé S., McBride M.B., Norvell W.A., Hendershot W.H., 1997. Copper solubility and speciation of *in situ* contaminated soils : effects of copper level ; pH and organic matter. *Water, Air and Soil Pollution* 100, 133-149. https://doi.org/10.1023/A:1018312109677.

Scott-Fordsmand J.J., Krogh P.H., Weeks J.M., 2000. Responses of *Folsomia fimetaria* (Collembola : Isotomidae) to copper under different soil copper contamination histories in relation to risk assessment. *Environmental Toxicology and Chemistry* 19(5), 1297-1303. https://doi.org/10.1002/etc.5620190511.

Sogreah, Ademe, 2007. *Bilan des flux de contaminants entrant sur les sols agricoles de France métropolitaine : bilan qualitatif de la contamination par les éléments traces métalliques et les composés traces organiques et application quantitative pour les éléments traces métalliques*. Paris : Ademe, 329 p.

Soler-Rovira P., Fernández-Calviño D., Arias-Estévez M., Plaza C., Polo A., 2013. Respiration parameters determined by the ISO-17155 method as potential indicators of copper pollution in vineyard soils after long-term fungicide treatment. *Science of the Total Environment* 447, 25-31. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2012.12.077.

Sørensen T.S., Holmstrup M., 2005. A comparative analysis of the toxicity of eight common soil contaminants and their effects on drought tolerance in the collembolan *Folsomia candida*. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 60(2), 132-139. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2004.02.001.

Spurgeon D.J., Hopkin S.P., 1995. Extrapolation of the laboratory-based OECD earthworm toxicity test to metal-contaminated field sites. *Ecotoxicology* 4(3), 190-205. https://doi.org/10.1007/BF00116481.

Vázquez-Blanco R., Arias-Estévez M., Bååth E., Fernández-Calviño D., 2020. Comparison of Cu salts and commercial Cu based fungicides on toxicity towards microorganisms in soil. *Environmental Pollution* 257, 113585. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.113585.

Wang Q.Y., Sun J.Y., Xu X.J., Yu H.W., 2018. Integration of chemical and toxicological tools to assess the bioavailability of copper derived from different copper-based fungicides in soil. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 161, 662-668. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.06.041.

Warne M.S.J., Heemsbergen D., Stevens D., McLaughlin M., Cozens G., Whatmuff M. *et al.*, 2008, Modeling the toxicity of copper and zinc salts to wheat in 14 soils. *Environmental Toxicology and Chemistry* 27, 786-792.

Zhang H., Zhao F.J., Sun B., Davison W., McGrath S.P., 2001. A new method to measure effective soil solution concentration predicts copper availability to plants. *Environmental Science and Technology* 35(12), 2602-2607.

3

Pesticides organiques dans les sols et les eaux de surface en zones viticoles

Juliette Gaillard, Manon Pierdet, Marie-Hélène Dévier, Hélène Budzinski

Introduction et contexte

Du fait de leur utilisation en extérieur et sur des surfaces importantes, de nombreuses études font état de la présence des pesticides dans différents compartiments de l'environnement : air, sols, sédiments, biote et même dans des eaux de surface ou des eaux souterraines exploitées pour alimenter le réseau d'eau potable (Schummer *et al.*, 2010 ; Moschet *et al.*, 2014 ; Silva *et al.*, 2019). Les concentrations retrouvées dans l'environnement sont faibles (de l'ordre du millionième, voire du milliardième de gramme par litre d'eau ou par gramme de sol), mais peuvent avoir des effets secondaires non intentionnels encore largement méconnus sur la vie des sols et la santé des plantes ou sur les organismes aquatiques présents dans les cours d'eau.

Encore aujourd'hui, la surveillance de la contamination des milieux par les pesticides constitue un défi important en raison notamment de la multiplicité des substances à étudier, de la forte variabilité spatiale et temporelle de la contamination, ou encore des faibles niveaux de contamination rencontrés dans l'environnement. Malgré la détection fréquente des pesticides dans l'environnement, les connaissances concernant leur dispersion sont limitées. Or la connaissance des principales sources et du comportement des pesticides dans l'environnement constitue une des clés pour une action efficace de lutte contre la dispersion de ces substances dans l'environnement.

La majorité des résultats présentés ici sont issus du projet de recherche PhytoCOTE (Région Nouvelle-Aquitaine/LabEx COTE) mené dans une zone viticole de Gironde entre 2015 et 2019 (cf. chapitre 1, p. 43).

Défis du suivi environnemental des pesticides organiques dans les sols et les eaux

À l'heure actuelle, environ 300 substances chimiques actives sont utilisées en agriculture, parmi lesquelles environ 100 substances sont autorisées en viticulture.

Une partie de ces substances parvient dans l'environnement et se disperse dans les sols et dans les eaux, où certaines présentent un risque du fait de leur toxicité.

De nombreux efforts sont aujourd'hui déployés pour améliorer le suivi de la contamination des sols et des eaux en pesticides organiques et ainsi évaluer le risque agroenvironnemental associé à leur usage. Actuellement, les principaux défis d'un suivi environnemental des pesticides concernent notamment :
– la diversité des substances utilisées ainsi que l'évolution rapide et constante de la liste des substances actives autorisées. Cela complexifie le travail de priorisation des substances à enjeux et suppose une mise à jour régulière des substances à surveiller ;
– le caractère diffus de la contamination par les pesticides qui a lieu sur des surfaces importantes et par de multiples utilisateurs, ainsi que le caractère épisodique des transferts, notamment vers les eaux de surface, générant une forte variabilité spatiale et temporelle de la contamination des sols et des eaux qui suppose de réfléchir sérieusement à la sélection des sites à surveiller et aux choix d'une méthode d'échantillonnage adaptée en fonction des objectifs poursuivis ;
– des niveaux de contamination rencontrés dans l'environnement qui sont souvent faibles, de l'ordre du microgramme (10^{-6} gramme), voire du nanogramme (10^{-9} gramme) par litre d'eau ou par gramme de sol. Certaines substances peuvent en effet être toxiques pour les écosystèmes à ces très faibles doses et il est donc important d'être en mesure de les détecter et de pouvoir les quantifier à ces niveaux.

Diversité des familles et groupes chimiques des pesticides : un défi pour l'évaluation agroenvironnementale

Les pesticides sont nombreux et peuvent être regroupés en 3 catégories selon leurs cibles et modes d'action :
– les fongicides, pour lutter contre les maladies dues à des champignons pathogènes qui endommagent la vigne et peuvent altérer les rendements et la qualité du raisin ;
– les herbicides, pour lutter contre les adventices en compétition avec la vigne qui utilisent les ressources nutritives et l'eau du sol et captent l'énergie solaire ;
– les insecticides, pour lutter contre les insectes ravageurs des vignes et parfois vecteurs de maladies.

Les pesticides se distinguent selon leur composition chimique : les molécules organiques, souvent issues de la chimie de synthèse, les pesticides organométalliques (par exemple le fosétyl-aluminium ou le métirame-zinc) et les pesticides inorganiques (comme le cuivre et le soufre). Seuls les pesticides organiques sont considérés ici. Il existe parmi ceux-ci plusieurs groupes chimiques, tous présentant un squelette carboné mais possédant des fonctions chimiques différentes. Les groupes chimiques des pesticides organiques les plus utilisés en viticulture sont présentés dans le tableau 3.1 ci-contre.

Tableau 3.1. Principaux pesticides organiques utilisés en viticulture.

Les pesticides sont regroupés par cibles et groupes chimiques. Sont considérés ici les pesticides actuellement utilisés ainsi que les pesticides utilisés par le passé, toujours présents dans l'environnement.

Cible	Groupe chimique	Première autorisation	Exemples
Fongicides	Phtalimides	1950	folpel
	Dithiocarbamates	1950	mancozèbe, métirame
	Benzimidazoles	1960	carbendazime (interdite depuis 2008), thiophanate-méthyl
	Amines, amides	1970	boscalid, fluopicolide, métalaxyl, spiroxamine, zoxamide
	Acétamides	1980	cymoxanil
	Phosphonates	1980	fosétyl aluminium
	Chloronitriles	1980	chlorothalonil
	Anilino-pyrimidines	1980	cyprodinil, pyriméthanil
	Morpholines	1990	diméthomorphe
	Triazoles et imidazoles	1990	tébuconazole, prothioconazole, cyazofamide
	Phénylpyrroles	1990	fludioxonil
	Strobilurines	1990	azoxystrobine, trifloxystrobine, krésoxim-méthyl
	Hydroxyanilides	1990	fenhexamide
	Benzophénones	2000	métrafénone
	Pyrimidylamines	2010	amétoctradine
Herbicides	Triazines	1950	atrazine, simazine (interdites depuis 2003), terbuthylazine (interdite depuis 2004)
	Urées substituées	1960	diuron (interdit depuis 2008)
	Ammoniums quaternaires	1960	diquat
	Aminophosphonates	1970	glyphosate, glufosinate
	Amines, amides	1970	napropamide, oryzalin, pendiméthaline, propyzamide
	Diphényl-éthers	1980	aclonifen
	Acides picoliniques	1980	fluroxypyr
	N-phénylphtalimides	1990	flumioxazine
	Sulfonylurées	1990	flazasulfuron
Insecticides	Organophosphorés	1940	chlorpyrifos-méthyl
	Pyréthrinoïdes synthétiques	1970	acrinathrine, cyperméthrine, lambda-cyhalothrine, tau-fluvalinate
	Benzoylurées	1970	flufénoxuron, lufénuron, diflubenzuron
	Néonicotinoïdes	1990	thiaméthoxame
	Oxadiazines	2000	indoxacarbe
	Anthranilamides	2010	chlorantraniliprole

Les structures chimiques diverses des pesticides impliquent des caractéristiques physico-chimiques différentes et donc des comportements dans l'environnement très variables. La liste des substances actives autorisées évolue constamment (restrictions d'usage, nouvelles homologations) et les groupes chimiques changent (tableau 3.1). Par exemple, pour les insecticides, les organochlorés, organophosphorés et pyréthrinoïdes de synthèse étaient très utilisés entre 1940 et 1970 alors qu'aujourd'hui les benzoylurées et les pyrèthres leur sont préférés. Cette diversité et cette évolution rapide complexifient le travail d'identification des substances pertinentes à suivre et supposent une mise à jour régulière de la liste de ces dernières.

En viticulture, la part des produits CMR (cancérogènes, mutagènes ou reprotoxiques) a tendance à fortement diminuer, comme cela est illustré pour la Gironde dans la figure 3.1 avec moins de 10 % du tonnage des produits phytosanitaires vendus en 2017. Cela témoigne d'une attention particulière portée aux substances présentant une forte toxicité spécifique pour la santé humaine. Depuis 2015, une augmentation de l'utilisation des produits de biocontrôle (phéromones, huiles essentielles végétales, macro-organismes…) accompagne la transition agroécologique. Ces derniers n'ont pas été suivis dans le cadre du projet PhytoCOTE.

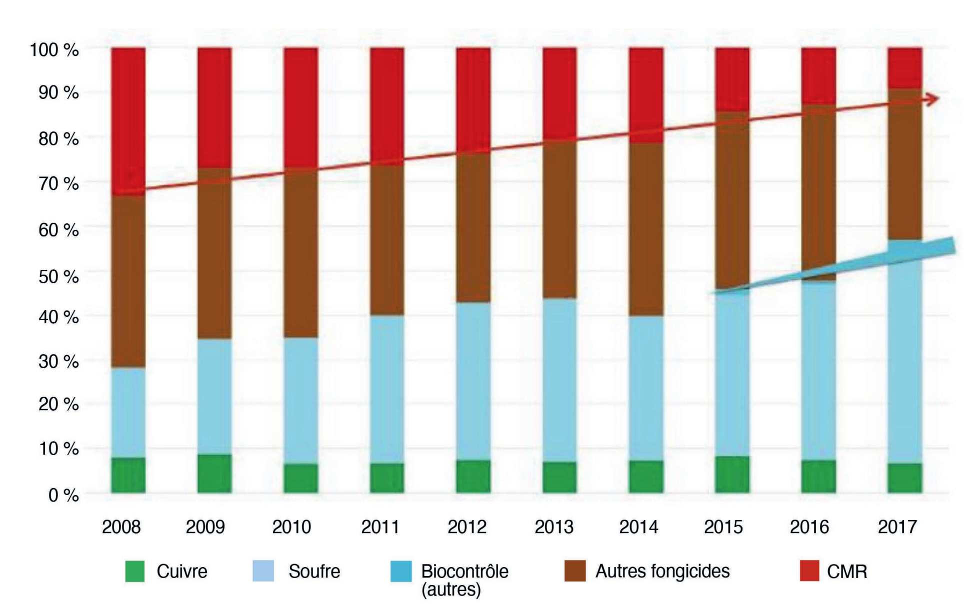


Figure 3.1. Répartition sur 10 ans de la part des matières actives utilisées comme fongicides dans la vigne en Gironde.
Source : d'après DP-CIVB 2019.

Surveillance de la contamination des sols et des eaux de surface

Sur le terrain, de nombreuses données sont collectées pour évaluer la contamination des milieux et améliorer la compréhension et prédiction de la dispersion des pesticides dans l'environnement.

Des réseaux de surveillance pérennes permettent de dresser un état de la contamination des sols et des eaux et de suivre leur évolution sur le long terme. Si la surveillance de la contamination en pesticides organiques est réalisée depuis plusieurs dizaines d'années dans les eaux, il existe encore peu de données pour les sols :
– en France, la surveillance de la contamination des sols est réalisée dans le cadre du réseau de mesure de la qualité des sols (RMQS). À cet effet, un certain nombre de paramètres (certains métaux et polluants organiques persistants) sont régulièrement suivis (GIS Sol, 2011) sur 2 200 sites disposés sur le territoire national selon un maillage systématique de 16 km de côté. Cependant, les pesticides organiques actuellement utilisés ne font pas encore partie du programme standard de surveillance RMQS. Des suivis larges ponctuels sur les pesticides organiques dans les sols ont récemment été intégrés sur un nombre restreint de sites de ce réseau (projet Phytosol, mission de phytopharmacovigilance, financée par l'Anses) ;
– la surveillance de la contamination des eaux de surface, quant à elle, est réalisée en France dans le cadre des réseaux de surveillance des agences de l'eau à la suite de l'adoption de la directive-cadre sur l'eau. Un certain nombre de paramètres (incluant les pesticides organiques) sont régulièrement suivis dans des stations de mesure réparties sur tout le territoire. Ces réseaux de mesures concernent généralement des cours d'eau de taille moyenne à importante où plusieurs sources ou vecteurs potentiels de pollution peuvent intervenir (stations de traitement des eaux usées, zones urbanisées, agriculture, industries…). Les petits cours d'eau, avec des bassins-versants de l'ordre de quelques km^2, font rarement l'objet d'une surveillance alors qu'ils constituent la majorité du linéaire du réseau hydrographique et qu'ils sont davantage susceptibles de présenter des bassins-versants fortement dominés par une seule forme d'activité (50 % de vignes) et donc d'être confrontés à des pics de concentrations élevées.

Des campagnes de mesures spécifiques sont également réalisées dans le cadre de programmes de recherche pour étudier certaines situations ou problématiques spécifiques. Concernant la viticulture, plusieurs sites expérimentaux en France localisés dans des zones de forte production viticole font l'objet de travaux d'investigation poussés (par exemple le bassin-versant de Rouffach en Alsace, bassin-versant de Roujan dans l'Hérault, bassins de la Morcille et de l'Ardières dans le Beaujolais). Dans le cadre du projet de recherche PhytoCOTE, un suivi environnemental de la contamination en pesticides a été mis en œuvre sur un bassin-versant expérimental viticole en Gironde (bassin de la Livenne).

Analyses dans les sols et les eaux : évolution des techniques

La quantification des micropolluants présents à l'état de traces ou d'ultra-traces (concentrations de l'ordre du microgramme, voire du nanogramme) a été permise par le développement de méthodes d'analyse robustes et validées.

Stratégie d'échantillonnage et de préparation des échantillons

Les différentes phases fixatrices de pesticides présentes dans les différentes matrices environnementales rendent l'analyse complexe. La fiabilité des résultats se joue

dès l'étape d'échantillonnage. Le choix du matériel d'échantillonnage ainsi que celui du conditionnement sont très importants. Pour les pesticides organiques, il faut éviter tout contact avec du plastique qui peut engendrer des phénomènes d'adsorption des pesticides à sa surface. Il faut donc favoriser l'usage de métal ou de verre. Pour les eaux, une étape de filtration peut être réalisée. Pour éviter les risques d'altération des composés présents, les échantillons sont soit analysés et conservés réfrigérés à réception dans le laboratoire, soit congelés avant analyse. Les échantillons de sol sont lyophilisés jusqu'à être séchés pour minimiser les risques de dégradation des pesticides organiques. Ils sont ensuite tamisés et broyés dans des unités en inox.

Évolution des techniques d'extraction, étape clé dans l'analyse

Le dosage des pesticides présents dans une matrice environnementale nécessite une étape d'extraction. La plupart du temps, l'extraction se fait à l'aide de solvants organiques adaptés aux caractéristiques physico-chimiques des molécules étudiées et à la matrice visée (sol ou eau).

Plusieurs méthodes sont dites classiques :
– l'extraction par agitation (sol) consiste à mettre en agitation l'échantillon dans un solvant organique ;
– l'extraction par ultra-sons (sol) améliore le contact entre les particules de sol et le solvant et facilite l'extraction ;
– l'extraction liquide-liquide (eau) permet une distribution des pesticides entre une phase aqueuse et un solvant organique non miscible avec l'eau.

Actuellement, d'autres techniques plus avancées et moins consommatrices de solvant ont été développées telles que pour les sols : l'extraction assistée par micro-ondes (extraction amplifiée par la chaleur), l'extraction par liquide pressurisé (soumis à haute pression), l'extraction par fluide supercritique (tel que le dioxyde de carbone), et l'extraction sur phase solide (*via* une phase solide fixatrice), cette dernière étant très utilisée pour les matrices aqueuses (Snyder *et al.*, 1992). Un des enjeux majeurs étant de miniaturiser la préparation d'échantillons afin de consommer moins de solvants, des micro-extractions en phase solide ou phase liquide sont développées comme la méthode QuEChERS (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe) qui associe solvants, sels et tampons.

Quantification des pesticides

Après l'extraction, il faut ensuite être en mesure de détecter et de quantifier chaque pesticide en les séparant et en ayant peu de bruit de fond afin d'être le plus sensible possible. La sensibilité est reflétée par la limite de quantification (LQ). La chromatographie en phase liquide ou gazeuse permet de séparer les analytes à l'aide de colonnes chromatographiques choisies en fonction des molécules cibles. Cette technique est couplée à la spectrométrie de masse en tandem pour la détection et la quantification de chaque analyte recherché. Un des enjeux actuels est d'établir des bilans de contamination les plus complets possibles, à l'état d'ultra-traces,

afin d'évaluer au mieux les risques environnementaux découlant des pratiques d'épandages. Pour ce faire, il faut chercher à abaisser les limites de quantification afin de pouvoir quantifier des pesticides à l'état d'ultra-traces pouvant présenter un risque toxicologique. Jusqu'à ce jour, la plupart des études d'une part ne visent qu'un nombre restreint de pesticides et d'autre part permettent une quantification jusqu'à la dizaine, voire quelques fois au nanogramme par gramme de sol ou par litre d'eau. Ce qui n'est toujours pas suffisant.

Paramètres influençant le devenir des pesticides dans les sols

La prédiction du comportement des pesticides à partir de leurs propriétés physico-chimiques : des résultats variables

Évaluer la persistance et les transferts des pesticides est primordial pour se diriger vers une agriculture raisonnée. Il faut tenir compte de plusieurs caractéristiques spécifiques de la molécule :

– le coefficient de partage (Kd) représente la distribution d'une molécule entre la phase liquide et la phase solide. Plus ce coefficient est élevé, plus l'adsorption sur la matrice sol est importante ;

– le coefficient d'adsorption (Koc) est le coefficient de partage carbone organique/eau. Il indique l'affinité du composé avec le carbone organique et le potentiel de rétention par la matrice solide organique des sols. Plus le Koc est élevé, plus la molécule est adsorbée à la surface des colloïdes organiques du sol. Le pesticide présentera alors moins de risque de passage en solution de sol, en revanche, plus de risque de lessivage par le biais des mouvements des colloïdes du sol ;

– le logarithme du coefficient de partage n-octanol/eau (log Kow ou log P) permet d'estimer l'hydrophobicité/hydrophilie d'une molécule à partir de l'étude de sa solubilité entre le n-octanol et l'eau. Plus ce coefficient est élevé, plus un composé aura tendance à se lier à la matière organique du sol. Lorsque ce coefficient est supérieur à 7 ou 8, les composés sont très fortement adsorbés, et donc peu mobiles ;

– le temps de demi-vie (DT50) correspond au temps nécessaire à la dégradation de 50 % de la quantité d'une substance dans des conditions aérobies à la suite de mécanismes biotiques ou abiotiques. Elle permet d'estimer la persistance de la molécule dans différents compartiments environnementaux. Ces DT50 peuvent être classées en 4 catégories de molécules : non persistantes (DT50 < 30 jours), modérément persistantes (DT50 30 < 100 jours), persistantes (DT50 100 < 365 jours) et très persistantes (DT50 > 365 jours). Les valeurs de DT50 dépendent des propriétés de la molécule, du type de sol mais également de l'humidité et de la température. Ainsi, la valeur de DT50 mesurée peut être fortement variable selon les études. La plupart des évaluations des DT50 sont réalisées en laboratoire. Mais la réalité du terrain soumis à différents climats, type de sol et pratiques agricoles peut jouer sur cette valeur.

Importance des variations pédologiques dans le devenir des molécules

La nature des sols peut influencer les comportements de rétention des pesticides. Parmi les différentes caractéristiques du sol, la matière organique joue un rôle clé dans cette rétention de par la grande affinité de celle-ci avec certains pesticides, par exemple le quinoxifène et certains conazoles (De Munari *et al.*, 2013 ; Narayanan *et al.*, 2014). La sorption/désorption est un mécanisme clé dans la distribution des pesticides entre les particules solides du sol et la solution de sol. La matière organique peut augmenter la sorption des pesticides sur la phase solide du sol (Olvera-Velona *et al.*, 2008 ; Hwang *et al.*, 2015).

De même pour les eaux de drainage et de ruissellement, Louchart *et al.* (2000) ont montré le fort impact des processus de rétention, notamment par la matière organique, dans les quantités transférées vers le compartiment aquatique. Une adsorption croissante dans le temps des contaminants résiduels sur la matrice sol limite les transferts vers les milieux aquatiques.

Toutefois, si la matière organique se solubilise, il est possible d'observer une désorption importante des molécules vers la solution de sol (Trinh *et al.*, 2017). La matière organique peut ainsi libérer sur le long terme des résidus liés d'atrazine ou d'isoproturon à la suite d'une modification des conditions physico-chimiques des sols.

La matière organique est sensiblement reliée au pH. Un pH acide augmentera la solubilité de la matière organique, ce qui aura pour conséquence de remettre en suspension une partie des pesticides présents à sa surface, comme c'est le cas pour le paraquat (Gondar *et al.*, 2012). Une acidification des sols peut également provoquer l'ionisation des molécules organiques non adsorbées, favorisant leur adsorption sur la phase solide du sol et les rendant ainsi moins facilement dégradables. En revanche, dans un sol neutre à légèrement alcalin, les conditions de pH seront favorables à l'activité microbienne et donc à la biodégradation. Le pKa d'une molécule pourra renseigner quant à la forme chimique de la molécule au pH du sol. Ainsi certaines molécules seront plus facilement solubilisables à pH acide tandis que d'autres le seront à pH alcalin (Komárek *et al.*, 2010).

Les oxydes et oxyhydroxydes peuvent également fixer certains pesticides, comme pour le penconazole (Komárek *et al.*, 2010). Une affinité plus forte du pentachlorophénol pour les oxydes de fer que pour la matière organique a ainsi été montrée (Diagboya *et al.*, 2016). Les processus d'oxydoréduction vont également impacter la forme chimique des pesticides en solution. Remucal et Ginder-Vogel (2014) ont mis en évidence des phénomènes d'oxydation des molécules organiques par les oxydes de manganèse en solution.

Les pesticides organiques peuvent avoir une grande affinité avec la matière organique, les oxydes de fer et de manganèse, mais également avec les phyllosilicates.

Les sols argileux ont un fort pouvoir de rétention vis-à-vis de certains pesticides organiques tels que l'atrazine, le chlorothalonil, le métalaxyl, le tébuconazole et le penconazole (Sakaliene *et al.*, 2007 ; Dos Reis *et al.,* 2017).

Le taux et la composition des phyllosilicates vont également impacter la solubilisation de certains pesticides tels que le cadusafos ou encore le chlortoluron (Olvera-Velona *et al.*, 2008).

Paramètres climatiques et pratiques pouvant expliquer les variations de comportement des molécules

Les conditions climatiques telles que la température et l'humidité jouent un rôle très important dans les processus de dégradation. Une augmentation de l'humidité et des températures des sols favorisera l'activité microbienne et les phénomènes de minéralisation. L'humidité va aussi déterminer la part de pesticide biodisponible pour les communautés microbiennes, définissant ainsi également la part de dégradation possible. L'effet température et celui de l'humidité ont été testés sur le diuron et la simazine. La DT50 est doublée à une température plus basse et quadruplée en sol sec (Barriuso *et al.*, 1996).

Le taux d'humidité des sols va également influencer les échanges sol-solution des pesticides organiques. Mais selon les molécules, une augmentation d'humidité peut augmenter la désorption ou augmenter la sorption sur les colloïdes.

Quelques études et modélisations montrent que la pluviométrie est un des facteurs principaux du lessivage, pouvant entraîner certains composés organiques jusqu'à 1 mètre de profondeur pendant les années de fortes pluies (Lammoglia *et al.*, 2018). Pour des herbicides, ce taux de lessivage peut être plus important au printemps qu'en automne en raison des précipitations pendant l'hiver.

Différentes pratiques agricoles peuvent impacter la persistance et les transferts des pesticides organiques (Gevao *et al.*, 2000) :
– l'apport de trop fortes concentrations en pesticides organiques augmente leur persistance tandis que leur minéralisation, biodégradation et adsorption diminuent du fait d'un effet toxique sur les micro-organismes du sol et de la formation de résidus liés au sol ;
– l'application répétée d'une même substance peut accélérer la dissipation et décélérer la formation de résidus liés, en conduisant à une adaptation des micro-organismes du sol et à la formation de consortia microbiens, permettant d'augmenter la biodégradation. Ces observations ne sont cependant pas vraies pour toutes les molécules. Racke et Lichtenstein (1987) ont ainsi montré une accumulation de résidus de parathion liés au sol, plus importante en 3 applications qu'en une. L'application simultanée de plusieurs molécules entraîne une compétition pour les sites de fixation et ainsi favorise le lessivage des molécules ayant une plus faible affinité pour la matière organique telles que l'hexazinone et le diuron en application simultanée avec le metsulfuron (Dos Reis *et al.*, 2017) ;
– l'apport d'amendement organique augmente la formation de résidus liés. En contrepartie, la matière organique représente un foyer idéal pour le développement et la prolifération de micro-organismes qui pourront ainsi dégrader les pesticides organiques ;

– l'enherbement et la création de zones tampons ont déjà montré une efficacité importante face à l'incorporation des pesticides dans les sols et une diminution de leur lessivage (Dousset *et al.*, 2010) ;
– les pratiques mécaniques peuvent également permettre une réduction non négligeable des dépôts de pesticides sur les sols. Ainsi l'utilisation de panneaux récupérateurs est particulièrement efficace. Néanmoins le traitement des eaux de lavages de ces instruments est une nouvelle source de contamination potentielle, car tous les domaines viticoles ne sont pas équipés d'une zone de nettoyage spécifique permettant la récupération de ces eaux et leur traitement particulier.

Les sols, récepteurs initiaux des pesticides agricoles

Teneurs dans les sols viticoles : persistance ou dissipation ?

Lorsqu'un pesticide est épandu, une partie va se retrouver de façon directe ou indirecte (lessivage du feuillage par la pluie, retombée des feuilles à l'automne) en contact avec le sol. La réactivité du sol face aux différentes molécules peut impliquer leur rétention pendant plusieurs jours, semaines, mois, voire années.

Les concentrations de pesticides organiques sont majoritairement faibles (*i.e.* < 10 ng/g) dans les sols viticoles. Une étude européenne récente se focalisant sur 76 pesticides a permis de quantifier de 2 à 5 molécules dans des sols viticoles du sud-ouest de la France (Silva *et al.*, 2019). Les concentrations étaient comprises entre 50 et 150 ng/g en tenant compte du glyphosate et de son produit de dégradation (ou métabolite), l'AMPA (acide aminométhylphosphonique).

Dans le cadre du projet PhytoCOTE, 62 molécules de pesticides organiques (32 fongicides, 17 insecticides et 13 herbicides) ont été quantifiées dans la couche 0-15 cm des sols (figure 3.2) (Pierdet, 2020). 20 molécules ont été retrouvées dans plus de 50 % des parcelles. Seule la spiroxamine a été retrouvée dans 100 % des parcelles, suivie de près par le bénalaxyl, le fludioxonil, le tébuconazole et le chlorantraniliprole dans plus de 90 % des parcelles. Ces résultats mettent en évidence la présence de mélanges de pesticides allant de 16 à 35 molécules selon les parcelles. Les concentrations moyennes de chaque pesticide fluctuaient de 0,10 à 50 nanogrammes par gramme de sol sec, avec des maximums pouvant atteindre plusieurs centaines de nanogrammes par gramme de sol (1600 ng/g pour le boscalid).

Parmi les 62 molécules retrouvées, seules 26 étaient utilisées l'année précédant le prélèvement du sol (tableau 3.2). Les 36 autres molécules n'avaient pas été épandues auparavant et 13 d'entre elles étaient des molécules ou métabolites de molécules interdites. Cela témoigne de la persistance de certaines molécules dans les sols. Toutefois, il est aussi possible de constater la rapide dissipation de 12 molécules épandues l'année précédant les prélèvements.

Figure 3.2. Fréquence de quantification des pesticides dans les sols viticoles étudiés dans le cadre du projet PhytoCOTE.

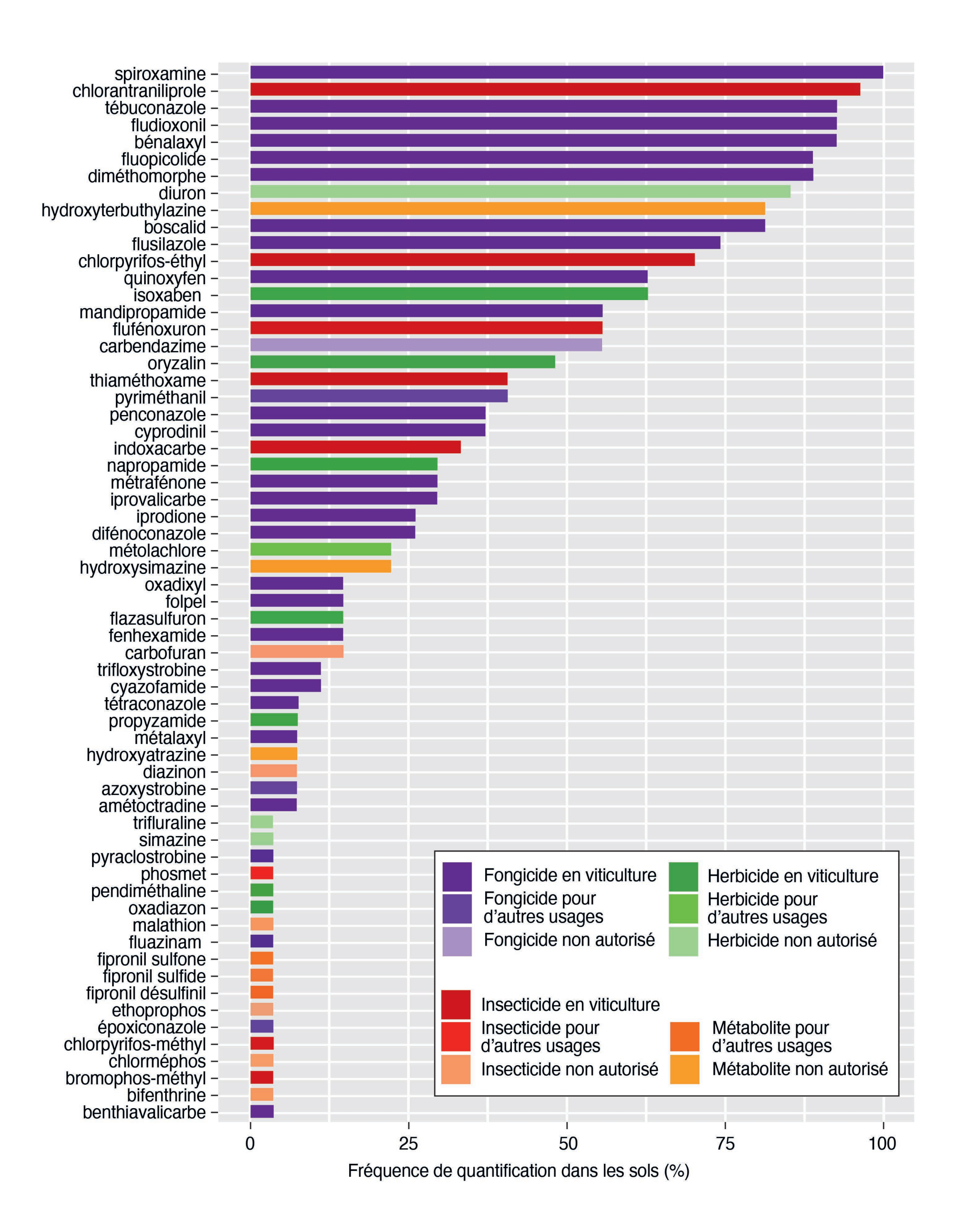


Tableau 3.2. Répartition de la quantification des molécules recherchée selon leur application (issue de Pierdet, 2020).

205 molécules recherchées	Substance active quantifiée en 2017	Substance active non quantifiée en 2017
Substance active appliquée en 2016	26 (13 %)	12 (6 %)
Substance active non appliquée en 2016	36 (18 %)	130 (63 %)

Le sol : un compartiment de dégradation des molécules ?

Les pesticides organiques étant des molécules avec un squelette carboné, une des voies de dissipation est leur dégradation. Cette dégradation peut être d'origine biotique ou abiotique. La part de dégradation liée à chacune reste difficile à déterminer car les deux se produisent souvent simultanément. Malgré cela, la biodégradation par les communautés bactériennes du sol est souvent la plus importante. Néanmoins, dans des sols où les conditions ne sont pas propices au bon développement des communautés, notamment en profondeur ou encore dans des sols trop acides ou trop contaminés, la dégradation abiotique est alors la voie de dégradation principale. Les différentes voies de dégradation sont présentées dans la figure 3.3 ci-dessous.

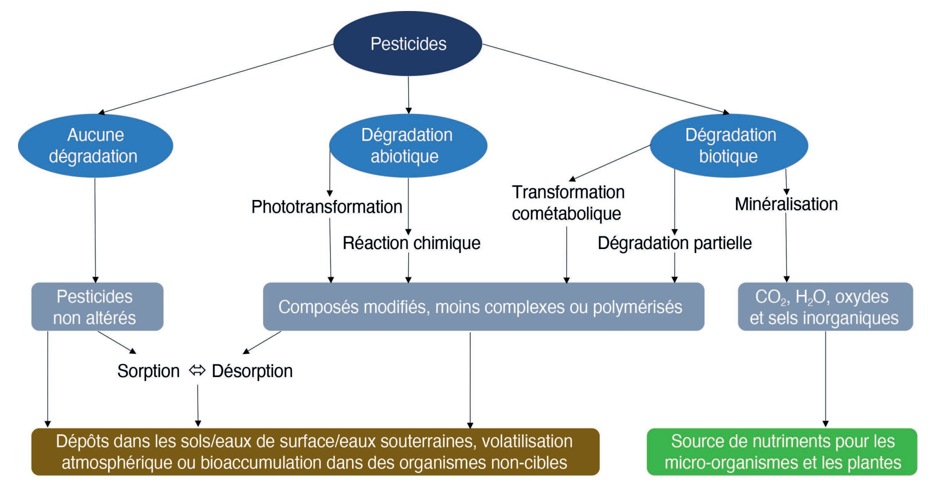


Figure 3.3. Voies possibles de dégradation des pesticides (Pierdet, 2020).

Certaines molécules peuvent ne subir aucune altération dans les sols. Ce sont souvent des molécules chimiquement stables et comprenant de nombreux substituants chlorés ou halogénés, ce qui les rend difficilement dégradables. La molécule est donc extrêmement rémanente dans l'environnement. La dégradation va former des produits de transformation, dits métabolites, issus de la transformation de la molécule mère. Ces métabolites sont la résultante de réactions chimiques telles que l'oxydation/réduction ou encore la (dé)alkylation, pouvant se produire par phénomènes abiotiques ou catalyse enzymatique par les communautés microbiennes des sols. Ces phénomènes impliquent une modification de la structure moléculaire et donc de leurs caractéristiques de rétention dans les sols. Ces métabolites ont souvent une toxicité différente, moindre ou plus importante, que la toxicité de la molécule initiale. De plus, ces métabolites sont souvent plus propices aux transferts dus à une structure moléculaire moins complexe et plus polaire (en raison des phénomènes d'oxydation).

L'étape ultime est la minéralisation complète d'un pesticide par les micro-organismes, le pesticide étant alors transformé en CO_2 ou encore en nutriments.

Le sol, un compartiment de transit propice aux transferts pour les pesticides

Transferts des pesticides en profondeur : concept de lessivage et lixiviation

Malgré la forte rétention des pesticides en surface des sols, il est possible qu'une partie de ces contaminants soit transportée vers des horizons plus profonds. Deux processus peuvent entraîner les contaminants en profondeur : le lessivage et la lixiviation. Le lessivage des sols entraîne les contaminants *via* le transfert colloïdal. Les quantités perdues par lessivage sont estimées en général entre moins de 1 % et jusqu'à 5 % de la quantité appliquée dans certains cas exceptionnels (Flury, 1996). La lixiviation peut également entraîner les pesticides en profondeur, mais cette fois sous forme dissoute.

La figure 3.4 illustre la variation d'incorporation de certains pesticides dans des horizons plus profonds de différents sols. Malgré de faibles concentrations mesurées (entre 0,1 et 20 nanogrammes par gramme de sol), les risques de contamination lors de la remontée des nappes d'eau en hiver existent.

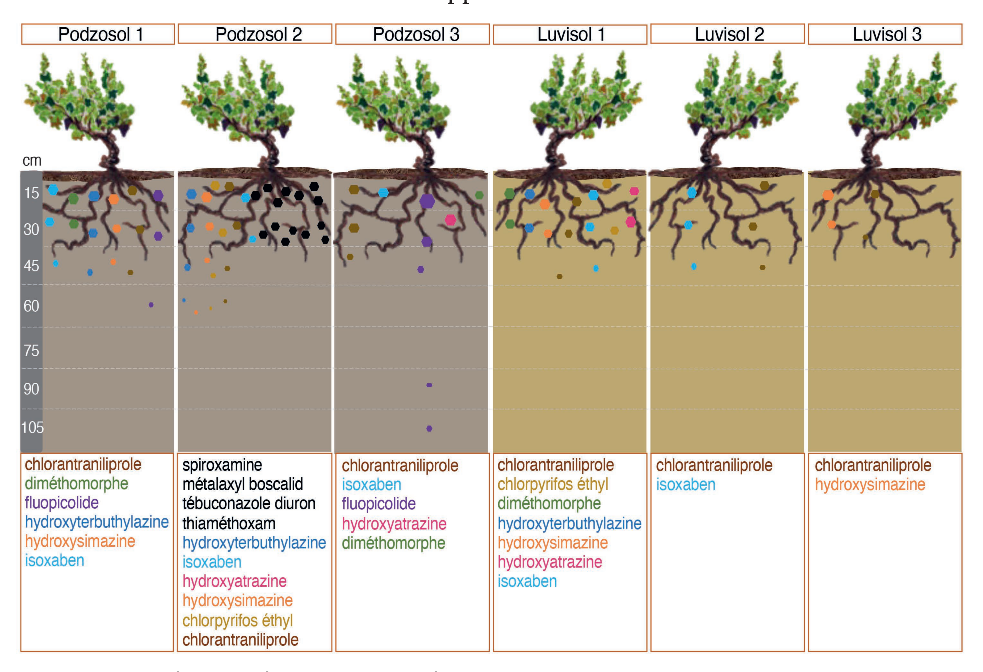


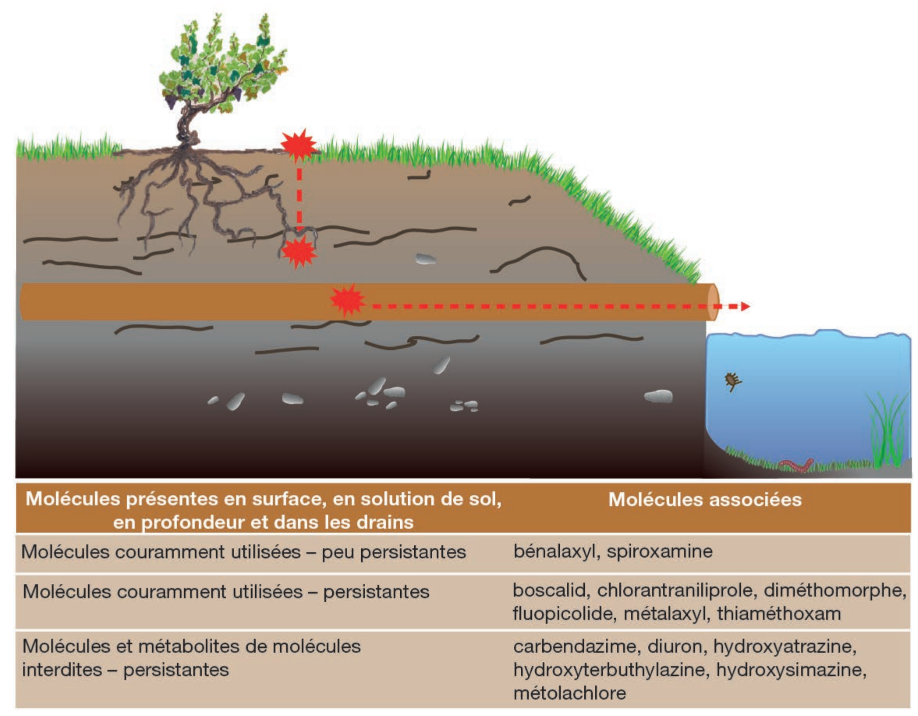
Figure 3.4. Schéma représentatif des différents transferts des pesticides en profondeur dans les sols retrouvés dans le cadre du projet PhytoCOTE (issu de Pierdet, 2020).

Transferts des pesticides vers les eaux de surface

Un des phénomènes physiques naturels qui peut être responsable de la contamination des eaux de surface d'un bassin agricole est le ruissellement de surface lors de fortes pluies. Ces transferts d'eau le long du continuum sol-ruisseau entraînent également les pesticides présents à la surface des sols, de façon plus ou moins importante, selon plusieurs critères tels que : la pente, le degré d'enherbement, le type de sol, les techniques culturales, l'intensité des précipitations et les caractéristiques

physico-chimiques de chaque pesticide. Ce surplus d'eau peut également être évacué par drainage artificiel des sols aboutissant à un rejet vers les fossés agricoles ou cours d'eau. Les eaux de drainage et le ruissellement sont responsables d'apports vers les eaux de surface pouvant être importants. Les ruissellements peuvent engendrer des pertes inférieures à 10 % de la quantité appliquée dans les petits bassins-versants (< 1 km²) et inférieures à 1 % dans les bassins-versants plus importants (< 10 km²).

La figure 3.5 illustre la diversité des molécules fortement transférées vers les eaux de surface dans le cadre du projet PhytoCOTE au cours d'une année de suivi. Il est à noter qu'un nombre certain de molécules ou métabolites de molécules non utilisées et interdites depuis plusieurs années gardent une dynamique de transferts toujours actuelle. Malgré des concentrations relativement faibles dans les sols, les concentrations dans l'eau étaient de l'ordre de 100 ng/l. Pour certaines molécules telles que le diméthomorphe, l'hydroxyterbuthylazine ou le fluopicolide, les concentrations étaient proches de l'ordre du microgramme par litre d'eau tout au long de l'année.



Molécules présentes en surface, en solution de sol, en profondeur et dans les drains	Molécules associées
Molécules couramment utilisées – peu persistantes	bénalaxyl, spiroxamine
Molécules couramment utilisées – persistantes	boscalid, chlorantraniliprole, diméthomorphe, fluopicolide, métalaxyl, thiaméthoxam
Molécules et métabolites de molécules interdites – persistantes	carbendazime, diuron, hydroxyatrazine, hydroxyterbuthylazine, hydroxysimazine, métolachlore

Figure 3.5. Schéma représentatif des pesticides les plus fréquemment transférés dans le cadre du projet PhytoCOTE.

Transferts dans les bassins-versants : exemple du bassin de la Livenne

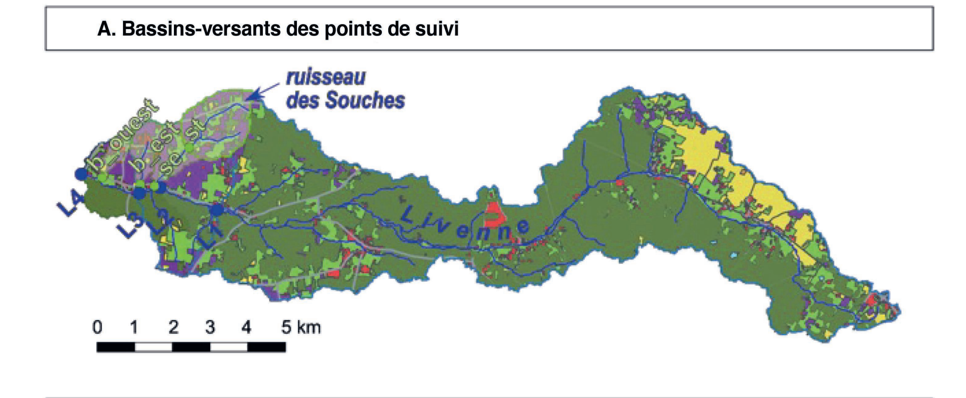
L'objectif des travaux menés dans le cadre du projet de recherche PhytoCOTE était d'effectuer un premier relevé, le plus exhaustif possible, des concentrations des pesticides potentiellement présents dans les eaux de surface, et donc d'établir un premier état des lieux de la pollution des cours d'eau de petite et moyenne dimension

du site expérimental par les pesticides. Il s'agissait d'identifier et de quantifier les molécules retrouvées dans les cours d'eau d'un bassin-versant viticole au cours du temps et d'estimer la contribution des activités viticoles à cette contamination.

Des prélèvements ont été effectués en plusieurs points du site expérimental, choisis à partir d'une analyse détaillée de l'occupation du sol et des activités sur le bassin-versant (figure 3.6). Ce choix a été guidé par :
– la représentation d'un cours d'eau de petite taille alimenté par un bassin-versant fortement viticole (Souches : points se, st) et d'un cours d'eau de taille moyenne (Livenne : points L1 à L4) alimenté par un bassin-versant présentant des pressions plus variées (viticoles, mais aussi autres activités agricoles, domestiques, industrielles) présentes sur le site ;
– la possibilité de mettre en évidence un gradient de contamination sur la Livenne depuis l'amont (L1) vers l'aval (L4) du site expérimental ;
– la possibilité d'identifier d'autres sources de pesticides dans le bassin-versant en lien avec la présence d'autres activités sur le site expérimental : autres cultures (par exemple, de grandes cultures), rejets ponctuels d'effluents issus de l'assainissement communal ou d'effluents d'industries agroalimentaires (distillerie, vinification) (points b_est et b_ouest localisés sur des fossés intermittents).

Tout comme le choix des points de suivi, le choix d'une stratégie d'échantillonnage est une étape cruciale pour l'évaluation de la contamination des cours d'eau. Dans le cadre du projet PhytoCOTE, le relevé des concentrations des cours d'eau et fossés du site réalisé en 2017 et 2018 s'est appuyé sur des prélèvements d'eau ponctuels, à une fréquence mensuelle ou bimensuelle, en fonction des périodes d'application des pesticides. À noter que sur les fossés intermittents, la réalisation des prélèvements était conditionnée par la présence d'écoulements. Si le prélèvement ponctuel d'eau constitue une méthode de référence dans le cadre de la surveillance de la qualité de l'eau, se pose la question de la représentativité de cet échantillon par rapport à la variabilité des concentrations dans le temps. Des échantillonneurs passifs de type POCIS (Polar Organic Chemical Integrative Sampler) ont donc également été déployés mensuellement sur les cours d'eau permanents du site pour obtenir des échantillons temporellement représentatifs des masses d'eau à caractériser.

Les échantillons ont été analysés de façon à quantifier la quasi-totalité des pesticides organiques polaires de synthèse utilisés en viticulture sur le site expérimental. Une telle exhaustivité est rendue possible par des techniques d'analyse ultra-performantes présentées précédemment. Parmi les substances que les méthodes n'ont pas permis d'appréhender, figurent notamment les insecticides, très toxiques, à forte capacité d'adsorption, de la famille des pyréthrinoïdes (cyperméthrine, deltaméthrine…). Cette famille de substances exige des techniques très spécifiques en termes d'échantillonnage en raison de leur dégradation relativement rapide, ainsi qu'en termes d'analyse du fait de leur toxicité à très faible dose (de l'ordre du picogramme par litre) (Rösch *et al.*, 2019). Si ces méthodes n'ont pas pu être déployées dans le cadre du projet PhytoCOTE, il est important de garder à l'esprit que ces substances peuvent présenter un risque important pour les organismes aquatiques.



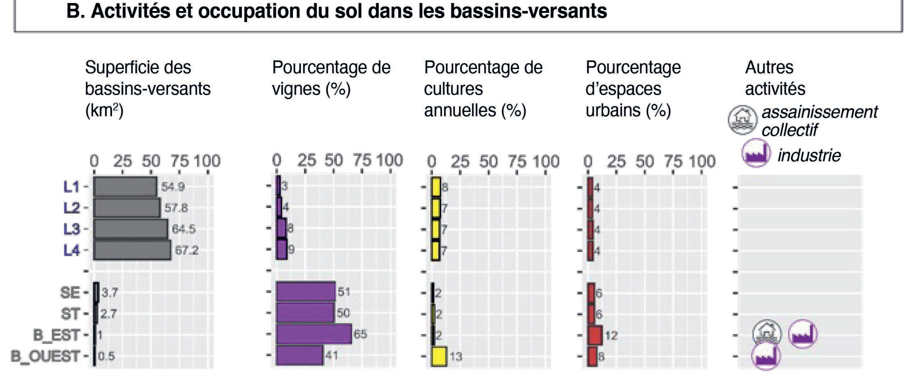


Figure 3.6. Occupation du sol et activités sur les deux bassins-versants des 8 points de suivi sélectionnés. Référentiel néo-aquitain d'occupation du sol (OCS) à grande échelle [PIGMA : Plateforme d'échange de données en Nouvelle-Aquitaine].

Substances impliquées dans la contamination des eaux de surface en zone viticole

Une grande variété de substances

Au total, 105 pesticides ou métabolites de pesticides ont été quantifiés dans les eaux de surface du site expérimental. Parmi les 105 substances quantifiées au moins une fois (figure 3.7) :

– 77 étaient des pesticides ou métabolites de pesticides homologués pour des usages phytosanitaires, dont la moitié environ étaient utilisés pour la culture de la vigne ;

– 28 étaient des pesticides ou métabolites de pesticides non homologués pour la protection des plantes. Leur présence dans le cours d'eau peut traduire des usages passés ou bien des usages actuels autres que la protection des plantes (lutte anti-nuisibles, traitement des toitures, antiparasites…).

Parmi les 77 pesticides ou métabolites de pesticides à usage phytosanitaire, les fongicides et herbicides représentaient respectivement 46 et 40 % des substances quantifiées. La majorité des fongicides quantifiés étaient des substances utilisées en viticulture. Cette quasi-égalité entre herbicides et fongicides est caractéristique des

bassins-versants fortement viticoles et reflète l'importance de l'utilisation des fongicides en viticulture. *A contrario*, les herbicides quantifiés étaient majoritairement associés à d'autres usages (grandes cultures…). Ce constat reflète le faible nombre d'herbicides homologués pour la vigne (≈ 15 substances actives) contrairement aux herbicides homologués pour les grandes cultures (> 50 substances actives).

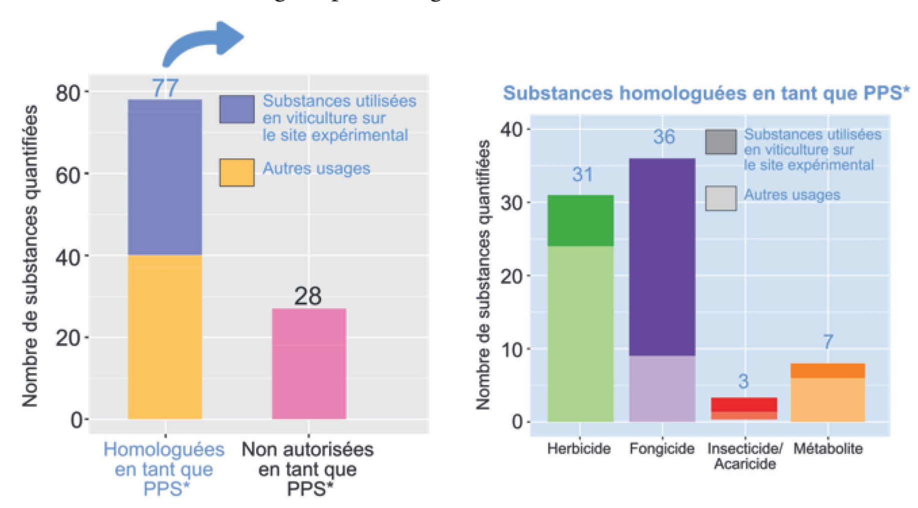


Figure 3.7. Nombre de substances quantifiées au moins une fois dans les eaux en fonction de leurs usages (par exemple, substances homologuées *versus* non homologuées en tant que produits phytosanitaires) et de leurs cibles (herbicide, fongicide, insecticide et/ou acaricide, métabolite…).

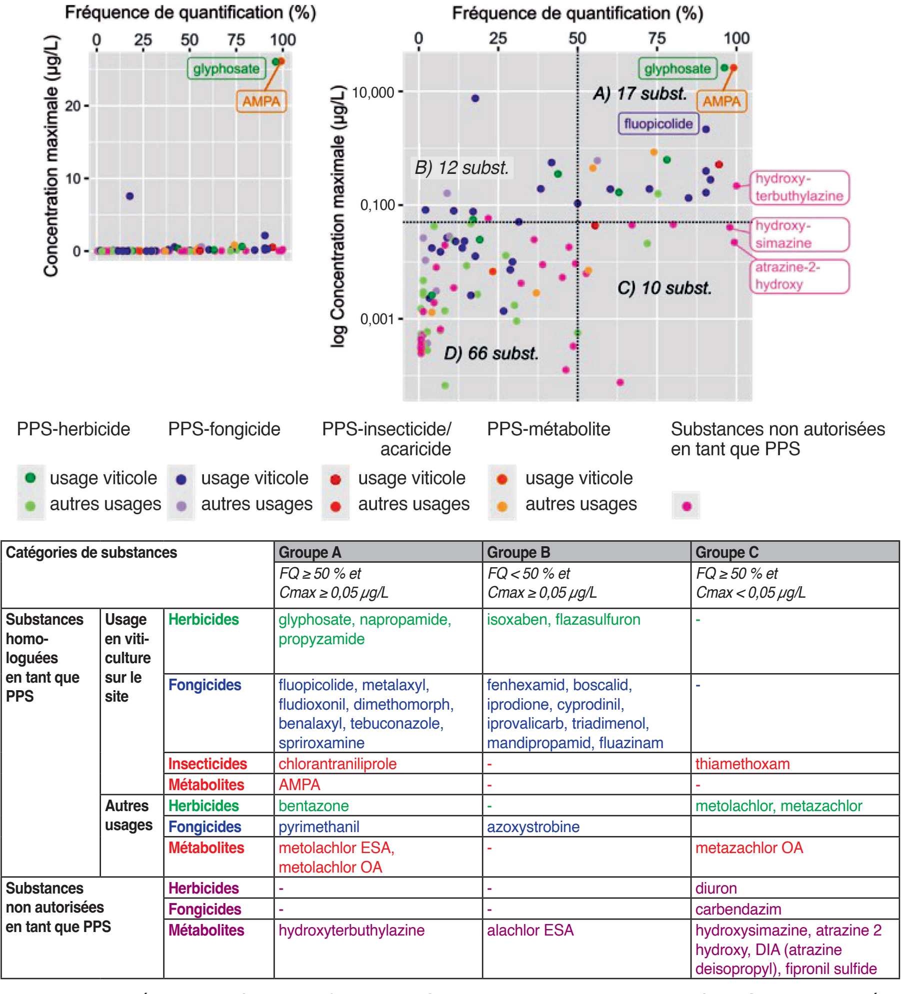
Aperçu des principales substances impliquées dans la contamination des eaux

Parmi les concentrations supérieures à la limite de quantification, une très grande majorité (≈ 80 %) des concentrations mesurées étaient faibles (< 0,01 µg/L), voire très faibles (< 0,001 µg/L) comme habituellement observé. Seules 4 % des concentrations étaient supérieures à 0,1 µg/L et seules 1 % des concentrations étaient supérieures à 1 µg/L.

Des pics de concentrations ont été mesurés pour le glyphosate et l'AMPA ainsi qu'épisodiquement pour certains fongicides viticoles sur les fossés intermittents (points b_est et b_ouest dans la figure 3.6). En effet, les pesticides présentent généralement de fortes variations temporelles de concentrations dans les milieux aquatiques. D'une part, les applications de pesticides agricoles affichent de fortes variations saisonnières. Et d'autre part, les apports de pesticides aux milieux aquatiques sont très irréguliers, en lien avec la mobilisation des pesticides par les pluies. Cette double dynamique est une grande source de difficulté, aussi bien pour l'évaluation de la contamination de l'eau sur le terrain que pour le travail de modélisation.

Parmi la multitude de substances quantifiées, nous avons distingué des groupes selon leur fréquence de quantification et leur concentration mesurée (figure 3.8). 17 substances (groupe A) contribuaient pour 20 à 95 % de la somme totale des concentrations

mesurées par échantillon. 39 substances (groupes A, B et C) contribuaient pour 86 à 100 % de la somme totale des concentrations mesurées par échantillon. Parmi les substances appartenant au groupe A et utilisées en viticulture, toutes, sauf la bentazone, étaient effectivement retrouvées en sortie de drains : très fréquemment dans le cas de la majorité des fongicides (fluopicolide, diméthomorphe, spiroxamine, bénalaxyl et métalaxyl), de l'insecticide chlorantraniliprole et du métabolite hydroxyterbuthylazine et de façon plus ponctuelle dans le cas des herbicides (napropamide et propyzamide), et de certains fongicides (fludioxonil et tébuconazole). À noter que le glyphosate/AMPA n'a pas été recherché dans les sols ou les eaux de drains.



Catégories de substances			Groupe A	Groupe B	Groupe C
			FQ ≥ 50 % et Cmax ≥ 0,05 µg/L	*FQ < 50 % et Cmax ≥ 0,05 µg/L*	*FQ ≥ 50 % et Cmax < 0,05 µg/L*
Substances homologuées en tant que PPS	Usage en viticulture sur le site	Herbicides	glyphosate, napropamide, propyzamide	isoxaben, flazasulfuron	-
		Fongicides	fluopicolide, metalaxyl, fludioxonil, dimethomorph, benalaxyl, tebuconazole, spriroxamine	fenhexamid, boscalid, iprodione, cyprodinil, iprovalicarb, triadimenol, mandipropamid, fluazinam	-
		Insecticides	chlorantraniliprole	-	thiamethoxam
		Métabolites	AMPA	-	-
	Autres usages	Herbicides	bentazone	-	metolachlor, metazachlor
		Fongicides	pyrimethanil	azoxystrobine	
		Métabolites	metolachlor ESA, metolachlor OA	-	metazachlor OA
Substances non autorisées en tant que PPS		Herbicides	-	-	diuron
		Fongicides	-	-	carbendazim
		Métabolites	hydroxyterbuthylazine	alachlor ESA	hydroxysimazine, atrazine 2 hydroxy, DIA (atrazine deisopropyl), fipronil sulfide

Figure 3.8. Fréquences de quantification (FQ) et concentrations maximales (Cmax) mesurées par substance dans les eaux de surface du site expérimental. L'échelle logarithmique est utilisée sur l'axe des ordonnées en raison de la très grande dispersion des concentrations. Chaque point représente une substance. Les lignes en pointillé représentent le 75e percentile des fréquences de quantification et des concentrations maximales mesurées par substance. Les substances sont classées en 4 groupes en fonction de leurs fréquences de quantification et concentrations maximales. Le tableau ci-dessus ne rassemble que les molécules les plus fréquentes ou présentant les plus fortes concentrations.

Appréciation de la qualité de l'eau

Les réponses toxicologiques des organismes sont généralement déterminées par l'ampleur, la durée et la fréquence de leur exposition à la fraction biodisponible des contaminants. Ce principe de base se complique dans les écosystèmes aquatiques car les concentrations de contaminants fluctuent continuellement en raison d'apports intermittents, des variations de débits et de la dissipation des contaminants dans l'environnement.

À l'heure actuelle, l'approche utilisée pour évaluer la qualité de l'eau se base principalement sur l'évaluation de l'ampleur de l'exposition : comparaison des concentrations mesurées aux normes de qualité environnementale (NQE) de la directive-cadre sur l'eau. Pour les substances ne disposant pas encore de telles valeurs de référence, des seuils prospectifs, calculés selon la même méthode que les NQE, sont utilisés. Ces seuils prospectifs ne présentent toutefois pas le même niveau de robustesse et de validité que les NQE.

Parmi la centaine de substances quantifiées, les seuils de qualité environnementale n'ont pas été respectés pour 9 substances uniquement. La plupart des substances pour lesquelles les seuils n'ont pas été respectés étaient des fongicides (4 parmi les 9 substances) et des insecticides (3 parmi les 9 substances). Ces dépassements de seuils ont été généralement constatés dans les fossés intermittents alors qu'ils étaient rarement constatés dans la Livenne ou le ruisseau des Souches :
– parmi les herbicides, les seuils de qualité environnementale pour le glyphosate et l'AMPA n'ont jamais été dépassés en raison de NQE particulièrement élevée (28 µg/L pour le glyphosate et 450 µg/L pour l'AMPA). De manière similaire, la propyzamide ou le napropamide, avec des seuils de qualité environnementale de l'ordre de 5 µg/L, n'ont jamais été associés à des dépassements ;
– parmi les fongicides, des dépassements ont été généralement constatés pour les substances actives qui présentaient les seuils de qualité environnementale les plus bas (de l'ordre de 0,01 µg/L) telles que le cyprodinil ou la spiroxamine ;
– les insecticides sont généralement appliqués en faibles quantités en comparaison des herbicides ou fongicides. Les concentrations mesurées dans l'environnement sont donc généralement faibles mais ces substances sont très toxiques avec des seuils de qualité environnementale généralement inférieurs à 0,01 µg/L. Parmi les insecticides, des dépassements des seuils de qualité environnementale ont été constatés pour les 2 substances (chlorantraniliprole, thiaméthoxame) autorisées pour des usages phytosanitaires et quantifiées ;
– parmi les substances non homologuées pour des usages phytosanitaires, des dépassements ont été épisodiquement constatés pour un insecticide (imidaclopride) non autorisé en agriculture au moment de l'étude. Des dépassements fréquents ont été constatés pour un métabolite de la terbuthylazine (l'hydroxyterbuthylazine). Si les seuils de qualité environnementale sont peu robustes pour cette substance, cela témoigne néanmoins d'une vigilance nécessaire en termes de surveillance et d'évaluation écotoxicologique des métabolites de substances actives.

Ainsi, selon que l'on considère les concentrations mesurées ou les dépassements des concentrations (éco)toxicologiques de référence, les pesticides incriminés

ne sont pas les mêmes. L'évaluation (éco)toxicologique permet d'identifier les substances qui, aux concentrations mesurées, présentent un risque toxicologique pour l'environnement aquatique. Cette appréciation est importante mais elle ne se suffit pas à elle-même dans la mesure où les substances en mélange peuvent porter atteinte aux organismes aquatiques même lorsque le seuil de qualité environnementale est respecté pour chacune d'entre elles.

Variabilité spatiale des concentrations et contribution des différentes activités du site expérimental à la contamination des eaux en pesticides

L'importance des pollutions diffuses d'origine agricole peut être évaluée par une analyse de l'occupation du sol dans l'espace concerné. Ainsi, plus la proportion de surfaces cultivées dans le bassin-versant est importante, plus les concentrations dans le cours d'eau sont susceptibles d'être élevées. Et les proportions de surface cultivées les plus élevées sont davantage attendues sur les petits cours d'eau que sur les cours d'eau de taille moyenne à grande. Cela s'explique par le fait que l'occupation du sol dans les grands bassins-versants est plus hétérogène et donc rarement dominée par une seule forme d'occupation du sol, comme cela peut être le cas sur des petits bassins-versants.

Une augmentation des concentrations entre l'amont (L1) et l'aval (L4) de la Livenne était donc attendue (figure 3.6). Cette augmentation des concentrations a été observée avec une somme moyenne des concentrations par échantillon de 0,1 µg/L à l'amont et 2,0 µg/L à l'aval de la Livenne. Cette augmentation globale de la somme des concentrations était principalement due à une augmentation des concentrations en glyphosate/AMPA et, dans une moindre mesure, à une augmentation des concentrations pour un certain nombre de substances utilisées en viticulture sur le site expérimental (figure 3.9). Cela signifie que, pour ces deux groupes de substances, les activités sur le site expérimental contribuaient significativement aux apports vers la Livenne. En revanche, pour les substances homologuées pour des usages phytosanitaires et n'étant pas utilisées en viticulture sur le site expérimental (ex : S-métolachlore et métabolites), ou pour les substances non homologuées pour des usages phytosanitaires (par exemple, les métabolites de l'atrazine), la comparaison des résultats obtenus entre l'amont et l'aval de la Livenne suggérait que l'essentiel des apports provenait de l'amont.

Une augmentation des concentrations entre la Livenne et le ruisseau des Souches (se) était donc attendue pour le glyphosate/AMPA ainsi que pour les substances utilisées en viticulture sur le site expérimental. Cette augmentation n'a pas été observée pour le glyphosate/AMPA, ce qui signifie que ces substances pouvaient avoir une source autre que le ruisseau des Souches. Cette augmentation a en revanche bien été observée pour la majorité des substances utilisées en viticulture. Pour certaines substances non homologuées pour des usages phytosanitaires (métabolite de la terbuthylazine…), les concentrations mesurées sur le ruisseau des Souches étaient globalement supérieures aux concentrations mesurées sur la Livenne.

Le glyphosate est un herbicide utilisé en vigne, mais également sur de nombreuses autres cultures. L'AMPA peut provenir de la transformation du glyphosate mais également de la transformation des phosphonates domestiques ou industriels. Ces deux substances peuvent donc avoir de multiples sources et voies de transfert. Les résultats obtenus sur le site expérimental suggèrent que l'AMPA avait une double origine : d'une part, un apport régulier par les effluents domestiques ou industriels (*via* le fossé intermittent « be »), et d'autre part, un apport lié à la transformation du glyphosate appliqué. Les fortes concentrations en glyphosate/AMPA mesurées en période estivale peuvent s'expliquer par plusieurs facteurs : l'importance des doses appliquées pour le glyphosate par rapport aux autres substances appliquées en période estivale, ainsi qu'une faible dilution des apports dans le cours d'eau en période estivale en raison de faibles débits d'étiage.

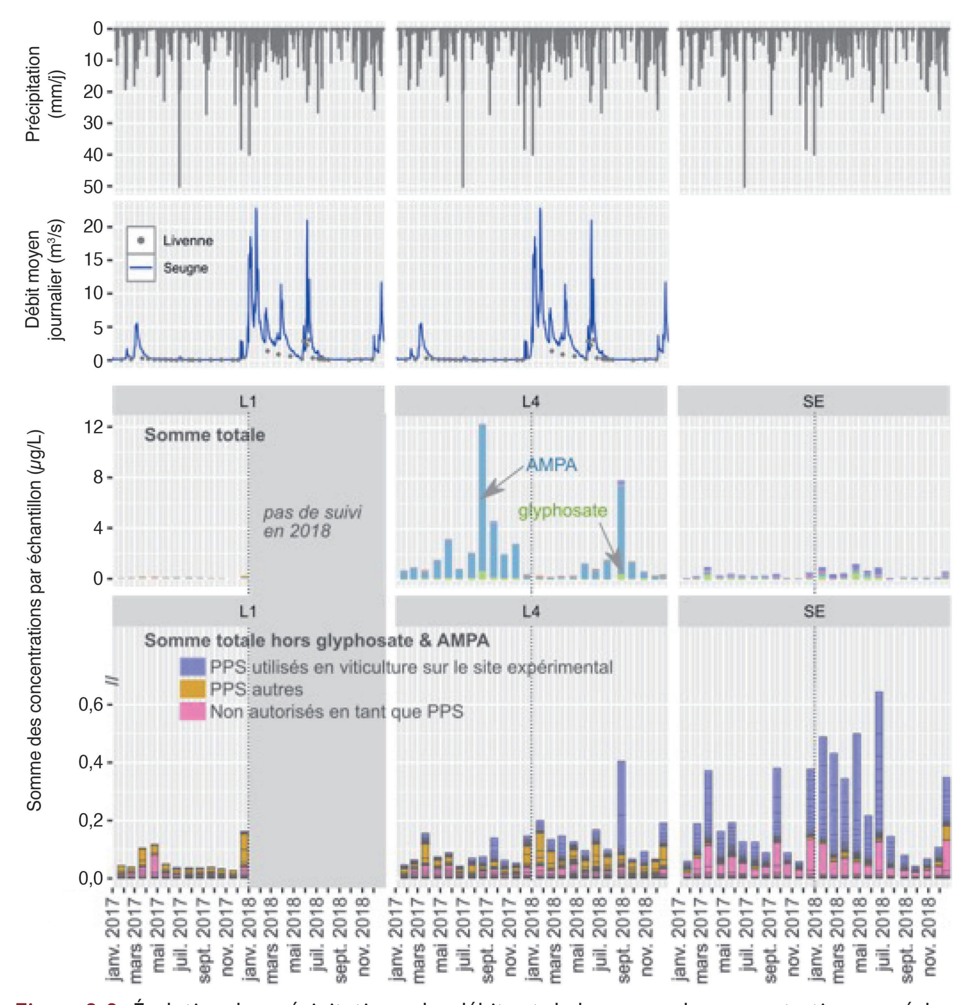


Figure 3.9. Évolution des précipitations, des débits et de la somme des concentrations par échantillon en fonction des points et dates de suivi. Pour les sommes des concentrations par échantillon, seules les valeurs supérieures à la limite de quantification sont prises en compte ici.

Variabilité temporelle des concentrations et voies de transfert des pesticides

Comme évoqué précédemment, les pesticides présentent généralement de fortes variations temporelles de concentrations dans les milieux aquatiques. Une distinction est généralement faite entre les cours d'eau de taille petite, moyenne ou grande étant donné qu'ils sont l'objet de dynamiques de concentrations relativement distinctes. Les petits cours d'eau dans les bassins-versants agricoles peuvent connaître des pics de concentrations prononcées compte tenu de leur faible capacité de dilution. À l'inverse, dans les grands cours d'eau, les variations de concentrations sont potentiellement plus faibles que dans les petits cours d'eau.

Cette forte dynamique temporelle des concentrations est une grande source de difficulté aussi bien pour l'évaluation de la contamination sur le terrain que pour le travail de modélisation. Les pics de concentration n'étant guère enregistrés lors des prélèvements ponctuels, la contamination est souvent sous-estimée et la variabilité temporelle des concentrations est peu renseignée. À l'heure actuelle, les suivis qui permettent l'appréhension des pics de concentrations ne sont pas compatibles avec un suivi multi-sites, comme réalisé ici (par exemple, les prélèvements haute fréquence pendant plusieurs épisodes pluvieux, analyses *in situ*). En revanche, des stratégies d'échantillonnage alternatives permettent d'obtenir une concentration moyenne pendant la période de prélèvement pour un budget raisonnable (figure 3.10) :
– les échantillons composites asservis au temps ou au débit : cela consiste à prélever des échantillons unitaires à intervalle fixe de temps (par exemple 50 mL toutes les 15 minutes) ou de volume d'eau passé (par exemple 50 mL tous les 0,5 m^3) pendant un certain temps (15 jours par exemple) à l'aide de préleveurs automatiques pour obtenir des échantillons moyennés. L'utilisation des préleveurs automatiques suppose de disposer d'une source d'énergie pour le pompage et la réfrigération des échantillons (en faisant l'hypothèse de la stabilité des molécules sur la période choisie) ;
– les échantillonneurs passifs : cela consiste à placer dans la masse d'eau, pendant un certain temps, des dispositifs qui accumulent en continu les contaminants présents en phase dissoute. Différents types d'échantillonneurs passifs existent

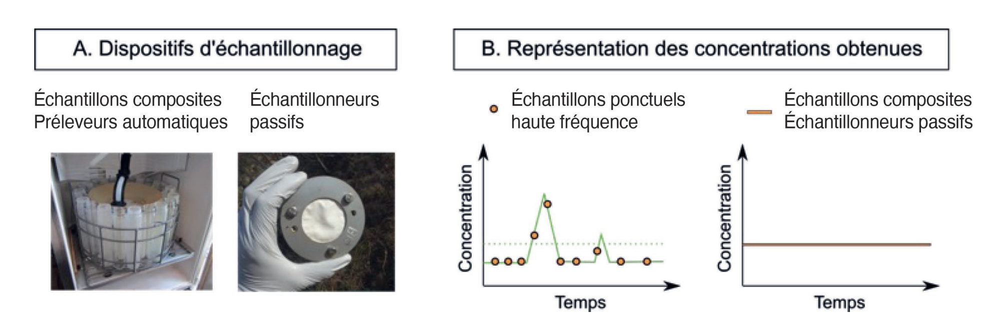


Figure 3.10. A) Dispositifs alternatifs d'échantillonnage et B) Représentation schématique des concentrations obtenues : en principe, la concentration moyenne obtenue avec des échantillons ponctuels haute fréquence est la même que celle obtenue avec des échantillons composites asservis au temps ou des échantillonneurs passifs.

selon la polarité des substances ciblées (POCIS, o-DGT, Chemcatcher®…). L'échantillonnage passif nécessite de disposer de données de calibration.

La figure 3.11 présente les résultats obtenus par prélèvements ponctuels d'eau et par échantillonnage passif de type POCIS (Polar Organic Chemicals Integrative Sampler), échantillonneurs passifs adaptés pour les contaminants polaires (log Kow < 3). Ils sont constitués d'une phase accumulatrice piégée entre deux membranes semi-perméables en polyéthersulfone par deux anneaux en inox.

La comparaison des résultats obtenus par échantillonnage passif et prélèvement ponctuel montre que les prélèvements ponctuels ne permettent pas de rendre compte de la dynamique de la pollution et des pics de concentrations dans les petits cours d'eau tel le ruisseau des Souches. À titre d'exemple, des pics de concentrations sont mesurés par échantillonnage passif pour un fongicide (tébuconazole) et un insecticide (chlorantraniliprole) alors qu'ils ne sont pas mesurés par prélèvement ponctuel. À noter que plus le cours d'eau est important, plus la pertinence des prélèvements ponctuels augmente, notamment en raison d'une plus faible variation temporelle des concentrations.

Pour les fongicides et insecticides viticoles, les résultats obtenus par échantillonnage passif ont permis de montrer que les concentrations les plus élevées (et donc le risque le plus élevé) étaient mesurées en juillet. Pour le chlorantraniliprole, les concentrations mesurées en juillet étaient supérieures au seuil de qualité environnementale (0,2 µg/L). Pendant la période d'étude, les pics de concentrations coïncidaient avec un épisode de pluie de forte intensité (≈ 50 mm) en période d'application et en période de faibles débits des cours d'eau (figure 3.11). Pour certains fongicides (comme le diméthomorphe), des concentrations élevées ont également été mesurées en périodes de hautes eaux. Ces résultats indiquent l'importance des transferts par écoulement de surface ou sub-surface en période d'étiage. Ils indiquent l'importance de trouver des solutions pour limiter ces transferts importants en cas de fortes pluies estivales. Ils indiquent également l'importance de maintenir des débits d'étiage suffisant pour permettre la dilution de ces apports dans les petits cours d'eau.

Pour les herbicides viticoles (hormis le glyphosate et l'AMPA), les résultats par échantillonnage passif ou par prélèvement ponctuel ont permis de montrer que les concentrations les plus élevées étaient mesurées en mars. Les résultats obtenus entre l'échantillonnage passif et les prélèvements ponctuels étaient similaires en raison d'une plus faible variation temporelle des concentrations pour ces substances.

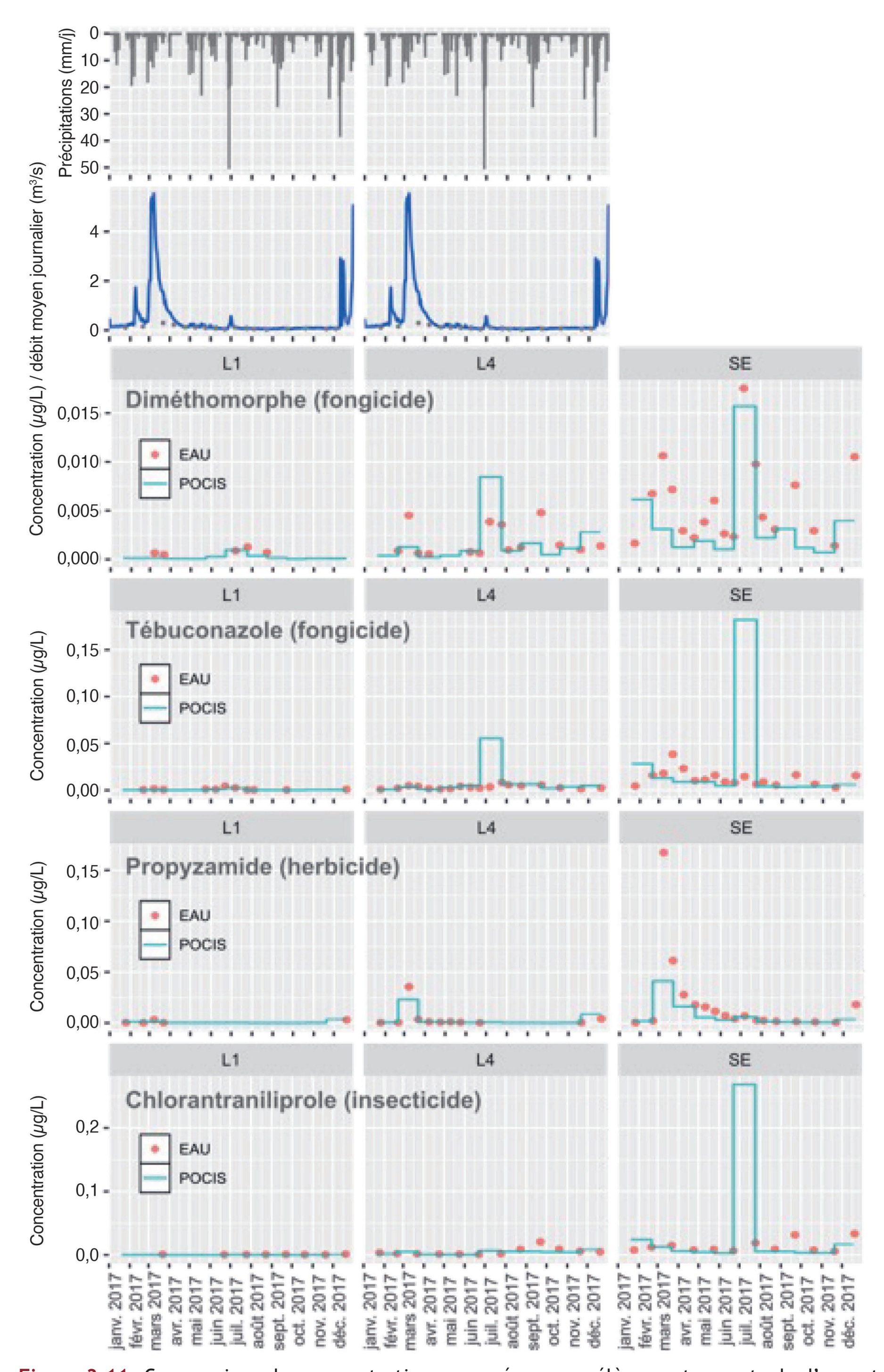


Figure 3.11. Comparaison des concentrations mesurées par prélèvements ponctuels d'eau et par échantillonnage passif (POCIS) pour une sélection de substances utilisées en viticulture.

De la recherche scientifique à la gestion technique des milieux naturels

La Communauté de communes de l'Estuaire (CCE) assure depuis 2014 la gestion des milieux aquatiques sur le bassin-versant de la Livenne. À ce titre, la collectivité met en place des actions pour restaurer les cours d'eau et atteindre le bon état écologique des masses d'eau, conformément aux objectifs fixés par la directive cadre sur l'eau de 2000.

Ces travaux de restauration ont notamment pour objectifs de rétablir la continuité écologique, l'hydromorphologie ou encore la ripisylve des cours d'eau. Au-delà de ces travaux, la CCE assure une surveillance globale des milieux aquatiques et de la ressource en eau, sur le plan qualitatif et quantitatif.

Le suivi de la qualité chimique et écologique des eaux superficielles est prépondérant dans cette surveillance globale. Il est réalisé de façon multi-partenariale, la collectivité bénéficiant en particulier du réseau de suivi de l'Agence de l'eau Adour-Garonne. Ce suivi permet non seulement de mesurer l'impact (positif ou négatif) des actions de la CCE sur le bassin-versant, mais il offre plus largement une vision de l'évolution des milieux aquatiques.

Il n'apporte cependant qu'une connaissance globale de l'état des masses d'eau. Il ne permet pas de relier les contaminations constatées à des activités anthropiques précises, et encore moins de tracer les transferts de polluants dans les milieux naturels. Ceci est particulièrement vrai et problématique pour ce qui concerne les activités agricoles (notamment la viticulture), qui peuvent avoir un impact important sur la qualité physico-chimique des cours d'eau.

Pour cette raison, en tant que structure gestionnaire du bassin-versant de la Livenne, nous sommes depuis toujours intéressés par les projets de recherche qui peuvent se réaliser sur notre territoire. Nous avons réellement besoin de ce travail qui nous apporte des connaissances objectives, ciblées et localisées sur les impacts des activités agricoles en matière de produits phytosanitaires, comme ce fut le cas avec le projet PhytoCOTE.

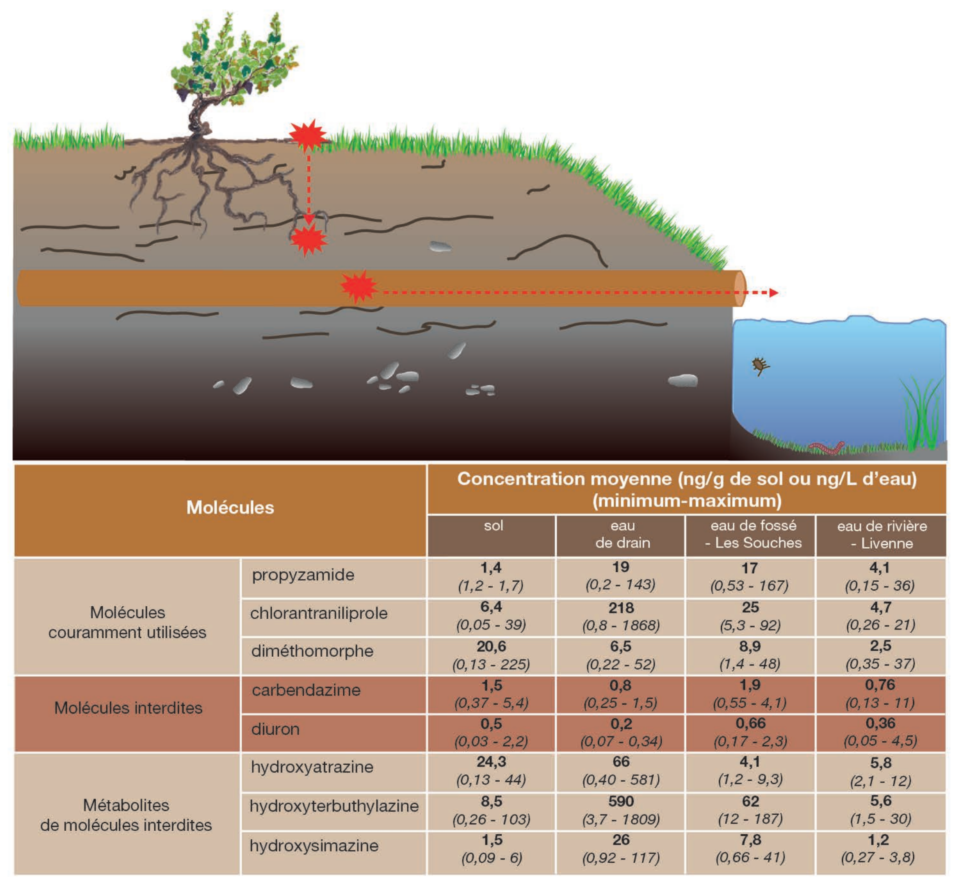
Ces projets sont d'autant plus riches lorsqu'ils nous permettent d'entrevoir des solutions concrètes, pour réduire l'impact des pesticides par exemple, en proposant des mesures aux acteurs concernés. C'est bien là que la recherche scientifique et nos compétences techniques de gestionnaire se rejoignent, dans l'élaboration et la mise en place d'actions concrètes, qui nous permettront demain de mieux préserver nos milieux naturels.

Témoignage de Guéric Gabriel, directeur du service Eau et Environnement à la Communauté de communes de l'Estuaire de la Gironde.

Conclusion et perspectives

Ce chapitre permet de faire un état des lieux environnemental de la contamination du continuum sol-eau de surface d'un bassin-versant viticole (figure 3.12). Ainsi, il a pu être observé que toutes les substances utilisées n'auront pas le même « impact pollution » lors de leur application. Ces résultats montrent aussi qu'il n'existe pas un même schéma comportemental pour toutes les molécules au sein du continuum. Les événements climatiques tels que l'augmentation de température et les fortes précipitations influencent fortement le devenir des pesticides le long de ce continuum. L'importance de ces phénomènes et leur caractère imprévisible rendent le travail de prévision des risques particulièrement complexe.

Le compartiment sol a à la fois, un rôle épurateur pour certains pesticides en favorisant leur biodégradation rapide, un rôle de stockage pour d'autres, les retenant plus que ce qu'il est attendu, ou encore un rôle de transfert temporairement filtreur qui limite les flux sortants. Il est donc nécessaire de considérer le continuum dans sa globalité, en prenant en compte tous les phénomènes physiques et biologiques s'y produisant, pour évaluer au mieux les risques écotoxicologiques liés aux pesticides et proposer des solutions de protection durables et efficaces.



Molécules		Concentration moyenne (ng/g de sol ou ng/L d'eau) (minimum-maximum)			
		sol	eau de drain	eau de fossé - Les Souches	eau de rivière - Livenne
Molécules couramment utilisées	propyzamide	**1,4** *(1,2 - 1,7)*	**19** *(0,2 - 143)*	**17** *(0,53 - 167)*	**4,1** *(0,15 - 36)*
	chlorantraniliprole	**6,4** *(0,05 - 39)*	**218** *(0,8 - 1868)*	**25** *(5,3 - 92)*	**4,7** *(0,26 - 21)*
	diméthomorphe	**20,6** *(0,13 - 225)*	**6,5** *(0,22 - 52)*	**8,9** *(1,4 - 48)*	**2,5** *(0,35 - 37)*
Molécules interdites	carbendazime	**1,5** *(0,37 - 5,4)*	**0,8** *(0,25 - 1,5)*	**1,9** *(0,55 - 4,1)*	**0,76** *(0,13 - 11)*
	diuron	**0,5** *(0,03 - 2,2)*	**0,2** *(0,07 - 0,34)*	**0,66** *(0,17 - 2,3)*	**0,36** *(0,05 - 4,5)*
Métabolites de molécules interdites	hydroxyatrazine	**24,3** *(0,13 - 44)*	**66** *(0,40 - 581)*	**4,1** *(1,2 - 9,3)*	**5,8** *(2,1 - 12)*
	hydroxyterbuthylazine	**8,5** *(0,26 - 103)*	**590** *(3,7 - 1809)*	**62** *(12 - 187)*	**5,6** *(1,5 - 30)*
	hydroxysimazine	**1,5** *(0,09 - 6)*	**26** *(0,92 - 117)*	**7,8** *(0,66 - 41)*	**1,2** *(0,27 - 3,8)*

Figure 3.12. Comparaison des concentrations des substances utilisées en viticulture les plus fréquemment mesurées le long du continuum sol-eau.

Cette étude montre ainsi l'importance du suivi environnemental pour les substances mères mais également l'importance des métabolites, comme l'a démontré la forte rémanence de l'hydroxyterbuthylazine. Sa molécule mère, la terbuthylazine, interdite en agriculture en 2004, a été ré-autorisée en 2017 pour la maïsiculture. Les législateurs pourront se servir de ces données afin d'implémenter leurs bases de données visant à la réévaluation de l'approbation de ces molécules.

Parallèlement à la limitation de l'usage des pesticides, il faut tester des pratiques agronomiques susceptibles de favoriser la dégradation des molécules organiques et de limiter leur transfert, ainsi que celui de leurs produits de dégradation, dans les sols, comme l'apport de matières organiques. Il semble évident que ces pratiques doivent se faire en étant particulièrement vigilants aux conditions climatiques et donc en essayant au maximum d'effectuer les différentes tâches agronomiques par anticipation des périodes de pluies et des hausses de températures, ce que font déjà les viticulteurs pour la mise en place des épandages. Un des phénomènes non étudiés dans cette étude, et qui pourtant peut jouer un rôle majeur dans les transferts vers les eaux de surface pendant les forts épisodes de pluies estivales, est le ruissellement de surface. Pour limiter ces transferts, l'enherbement ainsi que la création de zones tampons entre la culture et le ruisseau sont des pratiques à encourager.

Références bibliographiques et numériques

Barriuso E., Calvet R., Schiavon M., Soulas G., 1996. Les pesticides et les polluants organiques des sols : transformations et dissipation. *Étude et Gestion des sols* 3(4), 279-296.

De Munari A., Semiao A.J.C., Antizar-Ladislao B., 2013. Retention of pesticide Endosulfan by nanofiltration : influence of organic matter-pesticide complexation and solute-membrane interactions. *Water Research* 47(10), 3484-3496. https://doi.org/10.1016/j.watres.2013.03.055 Get rights and content.

Diagboya P.N., Olu-Owolabi B.I., Adebowale K.O., 2016. Distribution and interactions of pentachlorophenol in soils : the roles of soil iron oxides and organic matter. *Journal of Contaminant Hydrology* 191, 99-106. https://doi.org/10.1016/j.jconhyd.2016.04.005.

Dos Reis F.C., Tornisielo V.L., Pimpinato R.F., Martins B.A.B., Victória Filho R., 2017. Leaching of diuron, hexazinone, and sulfometuron-methyl applied alone and in mixture in soils with contrasting textures. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 65(13), 2645-2650.

Dousset S., Thévenot M., Schrack D., Gouy V., Carluer N., 2010. Effect of grass cover on water and pesticide transport through undisturbed soil columns, comparison with field study (Morcille watershed, Beaujolais). *Environmental Pollution* 158(7), 2446-2453. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2010.03.028.

Flury M., 1996. Experimental evidence of transport of pesticides through field soils : a review. *Journal of Environmental Quality* 25(1), 25-45. https://doi.org/10.2134/jeq1996.00472425002500010005x.

Gevao B., Semple K.T., Jones K.C., 2000. Bound pesticide residues in soils : a review. *Environmental Pollution* 108(1), 3-14. https://doi.org/10.1016/S0269-7491(99)00197-9.

GIS Sol, 2011. *L'état des sols de France*. Groupement d'intérêt scientifique sur les sols, 188 p.

Gondar D., López R., Antelo J., Fiol S., Arce F., 2012. Adsorption of paraquat on soil organic matter : effect of exchangeable cations and dissolved organic carbon. *Journal of Hazardous Materials* 235-236(15), 218-223. https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2012.07.044.

Hwang J.I., Lee S.E., Kim J.E., 2015. Interpretation and estimation for dynamic mobility of chlorpyrifos in soils containing different organic matters. *Environmental Geochemistry and Health* 37, 1017-1027.

Komárek M., Čadková E., Chrastný V., Bordas F., Bollinger J.C., 2010. Contamination of vineyard soils with fungicides : a review of environmental and toxicological aspects. *Environment International* 36(1), 138-151. https://doi.org/10.1016/j.envint.2009.10.005.

Lammoglia S.K., Brun F., Quemar T., Moeys J., Barriuso E., Gabrielle B. *et al.*, 2018. Modelling pesticides leaching in cropping systems : effect of uncertainties in climate, agricultural practices, soil and pesticide properties. *Environmental Modelling and Software* 109, 342-352. https://doi.org/10.1016/j.envsoft.2018.08.007.

Louchart X., Voltz M., Andrieux P., 2000. Dynamique de la mobilisation et du transfert du diuron par ruissellement. *Comptes Rendus de l'Académie de Sciences - Series IIa : Earth and Planetary Sciences* 331(7), 475-481. https://doi.org/10.1016/S1251-8050(00)01436-1.

Moschet C., Wittmer I., Simovic J., Junghans M., Piazzoli A., Singer H. *et al.*, 2014. How a complete pesticide screening changes the assessment of surface water quality. *Environmental Science & Technology* 48, 5423-5432. https://doi.org/10.1021/es500371t.

Narayanan N., Gajbhiye V.T., Gupta S., Manjaiah K.M., 2014. Adsorption-desorption of chlorothalonil, chlorpyrifos and pendimethalin in soils : Effect of soil organic matter and clay. *Agrochimica* 58(2), 165-177. http://digital.casalini.it/3039505.

Olvera-Velona A., Benoit P., Barriuso E., Ortiz-Hernandez L., 2008. Sorption and desorption of organophosphate pesticides, parathion and cadusafos, on tropical agricultural soils. *Agronomy for sustainable development* 28, 231-238. https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-01191985/document.

Pierdet M., 2020. *Évolution spatiale et temporelle de la mobilité des contaminants organiques et inorganiques dans des sols viticoles contrastés*. Thèse de doctorat, université de Bordeaux, 368 p.

Racke K.D., Lichtenstein E.P., 1987. Effects of agricultural practices on the binding and fate of ^{14}C-parathion in soil. *Journal of Environmental Science and Health, PartB* 22(1), 1-14.

Remucal C.K., Ginder-Vogel M., 2014. A critical review of the reactivity of manganese oxides with organic contaminants. *Environmental Sciences : Processes and Impacts* 16, 1247-1266.

Rösch A., Beck B., Hollender J., Singer H., 2019. Picogram per liter quantification of pyrethroid and organophosphate insecticides in surface waters : a result of large enrichment with liquid-liquid extraction and gas chromatography coupled to mass spectrometry using atmospheric pressure chemical ionization. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 411(14), 3151-3164. https://link.springer.com/article/10.1007/s00216-019-01787-1.

Sakaliene O., Papiernik S.K., Koskinen W.C., Spokas K.A., 2007. Sorption and predicted mobility of herbicides in Baltic soils. *Journal of Environmental Science and Health. Part B : Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes* 42(6), 641-647. https://doi.org/10.1080/03601230701465601.

Schummer C., Mothiron E., Appenzeller B.M.R., Rizet A.L., Wennig R., Millet M., 2010. Temporal variations of concentrations of currently used pesticides in the atmosphere of Strasbourg, France. *Environmental Pollution* 158, 576-584. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2009.08.019.

Silva V., Mol H.G.J., Zomer P., Tienstra M., Ritsema C.J., Geissen V., 2019. Pesticide residues in European agricultural soils : a hidden reality unfolded. *Science of the Total Environment* 653, 1532-1545. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.10.441.

Snyder J.L., Grob R.L., McNally M.E., Oostdyk T.S., 1992. Comparison of supercritical fluid extraction with classical sonication and soxhlet extractions for selected pesticides. *Analytical Chemistry* 64(17), 1940-1946. https://doi.org/10.1021/ac00041a032.

Trinh H.T., Duong H.T., Ta T.T., Van Cao H., Strobel B.W., Le G.T., 2017. Simultaneous effect of dissolved organic carbon, surfactant, and organic acid on the desorption of pesticides investigated by response surface methodology. *Environmental Science and Pollution Research* 24, 19338-19346. https://doi.org/10.1007/s11356-017-9431-5.

4

Réponses biologiques aux conditions environnementales dans les eaux de surface

Patrice Gonzalez, Magalie Baudrimont, Jérôme Cachot, Christelle Clérandeau, Guillemine Daffe, Agnès Feurtet-Mazel, Frédéric Garabetian, Bénédicte Morin, Shannon Weeks-Santos

Introduction et contexte

Le long du continuum terre-mer, les écosystèmes aquatiques jouent un rôle prépondérant. En effet, ces zones d'interface entre continent et océan ont un rôle écologique primordial pour de nombreuses espèces biologiques. Elles représentent l'habitat de ces organismes mais aussi sont le lieu d'une intense production primaire assurant les ressources alimentaires de chaînes trophiques complexes.

Cependant, ces systèmes aquatiques sont affectés par de nombreux apports provenant du continent, notamment en contaminants chimiques liés aux activités humaines. L'importance de la pollution des rivières, des zones côtières et estuariennes et des océans est avérée et son implication dans la dégradation de la biodiversité de ces écosystèmes sensibles prouvée (Chapman et Wang, 2001). Ces zones sont également fortement soumises au changement climatique global qui a des conséquences profondes sur l'hydrologie à travers ses influences sur les processus physiques et chimiques (Beaugrand *et al.*, 2014). Le changement climatique va impacter l'ensemble des compartiments biologiques depuis les producteurs primaires comme le plancton jusqu'aux niveaux les plus élevés des chaînes alimentaires (Beaugrand *et al.*, 2010). De nombreuses publications montrent l'effet combiné du changement climatique et des pressions anthropiques sur l'état de santé et la physiologie des organismes (Dam, 2013), la diversité des espèces et leurs abondances, leur cycle de vie et leurs impacts sur la structure et le fonctionnement de ces écosystèmes (Brun *et al.*, 2019). Ainsi, des changements limités des conditions environnementales, même à de faibles échelles spatio-temporelles, peuvent provoquer de grands changements des écosystèmes aquatiques.

Les eaux de surface peuvent contenir un grand nombre de molécules considérées comme des polluants de nature diverses : 1) des composés organiques tels que

des pesticides, des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP), ou encore des polychlorobiphényles (PCB) ; 2) des composés inorganiques tels que les métaux/métalloïdes qu'ils soient essentiels comme le cuivre (Cu) ou le zinc (Zn) ou toxiques comme le cadmium (Cd), le mercure, (Hg), l'arsenic (As). Parmi eux, certains contaminants sont considérés comme émergents car leur présence dans l'environnement est récente. C'est le cas notamment des composés pharmaceutiques, de métaux tels que le platine (utilisé dans la constitution des pots catalytiques automobiles) et les terres rares, issues de nos appareils informatiques et téléphones portables ou utilisées comme agent de contraste dans certaines applications médicales (cas du gadolinium par exemple). Au cours de ce chapitre, nous nous intéresserons particulièrement aux effets sur les organismes aquatiques de certains produits phytosanitaires, tels que les pesticides et les métaux.

L'utilisation importante de pesticides en agriculture, par les particuliers dans leurs jardins et sur leurs animaux de compagnie ou encore par les collectivités urbaines, a conduit à une contamination des hydrosystèmes (Silva *et al.*, 2019) et à des effets sur des organismes dit « non-cibles » vivant dans ces écosystèmes mais également, par répercussion, sur la santé humaine. En effet, les écosystèmes aquatiques constituent le réceptacle final de nombreuses substances, dont les pesticides. Ces dernières années, face à la pression sociétale, de nombreux agriculteurs ont modifié leurs pratiques afin de limiter leur utilisation de produits phytosanitaires ou se sont orientés vers l'agriculture biologique. Cependant, certains paramètres environnementaux peuvent limiter ces démarches positives. Ainsi, des températures plus élevées liées au changement climatique sont susceptibles de réduire l'effet de ces mesures de protection ; la persistance de certains composés chimiques peut également varier en fonction des paramètres climatiques ; et l'activité métabolique des organismes aquatiques peut être modulée par ces changements et accroître leur sensibilité à la pollution chimique (Delcour *et al.*, 2015). Enfin, même si les impacts sur les organismes non-cibles de nombreux pesticides ont été évalués ces dernières années et ont parfois conduit à des interdictions d'utilisation (exemple récent des néonicotinoïdes qui induisent une mortalité importante chez les abeilles), l'apparition de nouveaux composés ou des « nano » pesticides peut conduire à de nouveaux effets (Pino-Otín *et al.*, 2019).

Modalité de suivi des réponses biologiques

Intérêt de la biosurveillance active

La technique de biosurveillance active du milieu, plus communément appelée « caging », consiste à encager dans le milieu naturel, sur différents sites identifiés pour le suivi, des organismes dits « sentinelles » provenant d'une population d'origine non impactée par les polluants étudiés (population dite « de référence ») dans des structures de type « cages » adaptées aux conditions et aux espèces : cages perforées et lestées en rivières, ou tubes cylindriques perforés fixés à des pontons flottants dans les zones soumises aux marées, comme dans l'estuaire de la Gironde… (Baudrimont

et al., 2003). Cette technique permet de mesurer les cinétiques de contamination sur les différents sites des polluants ciblés dans les organismes sentinelles et d'en étudier les potentiels effets toxiques à différentes échelles d'intégration (du niveau cellulaire jusqu'à la population). Ces suivis permettent d'avoir une approche spatio-temporelle de la contamination et des effets toxiques sur une ou plusieurs espèces cibles (diatomées périphytiques, bivalves filtreurs, crustacés, poissons).

Espèces les plus utilisées en écotoxicologie

Les diatomées périphytiques

Les diatomées sont des microalgues que l'on peut retrouver dans tout milieu aquatique (eaux douces, de transition et marines). Elles font partie des organismes retrouvés dans les biofilms. Le biofilm aquatique désigne l'ensemble des organismes (microalgues, bactéries, champignons et micro-méiofaune) se développant sur tout type de substrat immergé, vivant ou inerte (Vadeboncœur et Power, 2017). Ce consortium de micro-organismes sécrète une matrice extracellulaire composée de polysaccharides, de glycolipides, d'acides nucléiques et de composés amphiphiles structurants. Les paramètres environnementaux tels que la température, la saisonnalité, l'intensité lumineuse, l'hydrodynamique des cours d'eau, les propriétés et disponibilité du substrat jouent sur la dynamique du biofilm. Parmi les microalgues du biofilm, les diatomées sont très abondantes et peuvent même constituer la quasi-totalité du peuplement végétal à certaines périodes de l'année. Il existe plus de 100 000 espèces de diatomées, et quasiment autant de variétés de réponses face aux stress. La haute sensibilité de certaines espèces et la forte tolérance d'autres permet de comprendre les modifications de structure du biofilm à différents niveaux et types de contamination (Gold *et al.*, 2003). L'étude de ces changements de taxons au sein du biofilm est utilisée pour suivre la qualité des eaux en France avec l'utilisation de l'indice IBD (indice biologique diatomique) de la directivre-cadre européenne sur l'eau (DCE 2000/60/CE *in* Prygiel et Coste, 1998). Le biofilm étant à la base de la chaîne alimentaire, une modification de sa structure ou une contamination de ce biofilm peuvent avoir des répercussions sur des organismes de plus haut niveau trophique, tels les gastéropodes d'eau douce, consommateurs directs de biofilm.

Les bivalves filtreurs

Les mollusques bivalves filtreurs sont des organismes sédentaires qui représentent bien le milieu dans lequel ils vivent, et qui filtrent de grandes quantités d'eau pour respirer et se nourrir. Ils présentent de grandes capacités à accumuler les polluants présents dans l'eau. En zone côtière, ces organismes sont largement utilisés pour surveiller la présence et les effets des contaminants libérés par les activités humaines, comme dans le cas du réseau de surveillance français des eaux côtières (ROCCH : Réseau d'observation de la contamination chimique, Ifremer) depuis les années 1980, ou le « Mussel Watch » aux États-Unis développé à la même période. Les bivalves sont représentatifs des systèmes aquatiques en cas de contamination

environnementale en raison de leurs capacités élevées d'accumulation de polluants aux niveaux sublétaux. De plus, ils permettent d'évaluer le risque sanitaire lié à la consommation des coquillages, comme les huîtres ou les moules, par la population.

Plus récemment, ces bivalves filtreurs ont également été utilisés pour surveiller la qualité de l'eau douce, avec notamment l'utilisation de la palourde asiatique *Corbicula fluminea* ou de la moule zébrée *Dreissena polymorpha* (Géba *et al.*, 2020). En plus de posséder la capacité d'accumuler facilement les polluants à des concentrations relativement élevées, les avancées récentes des techniques omiques permettent aujourd'hui d'étudier les effets des contaminants à différents niveaux, en complément des effets mesurés aux niveaux métabolique, physiologique ou comportemental (Bertucci *et al.*, 2018).

Les poissons

Du fait de leur positionnement à des niveaux élevés des chaînes trophiques et de leur large répartition dans les cours d'eau, les poissons sont un modèle d'intérêt pour évaluer la qualité des milieux aquatiques. Ils sont intégrateurs de l'ensemble des facteurs caractérisant la qualité des milieux (habitats, physico-chimie, hydrodynamique). Les poissons sont particulièrement concernés par les phénomènes de bioamplification de certains polluants comme les PCB, les dioxines et autres substances bioaccumulables dont la concentration tissulaire augmente avec le niveau trophique. Les espèces benthiques, telles que la sole, se nourrissant d'organismes vivant dans le sédiment, sont d'autant plus exposées à la contamination qu'elles intègrent à la fois la pollution de la colonne d'eau et celle présente dans le compartiment sédimentaire. Plusieurs espèces sont couramment utilisées comme modèle en écotoxicologie (OECD, 2013) parmi lesquelles la truite arc-en-ciel, le poisson zèbre ou encore le médaka japonais. Cependant, à cause de nombreuses contraintes éthiques, économiques et scientifiques, le choix des méthodes d'analyse et de modèles biologiques tend vers des méthodes alternatives qui ne sont pas couvertes par la réglementation européenne (Directive 2010/63/UE ; UE, 2010) comme les tests sur les stades précoces de développement de poisson (SPD[18]) (Garthoff, 2005). Par ailleurs, la sensibilité particulière des embryons et larves vis-à-vis d'une large gamme de substances, l'impact à long terme que peuvent avoir ces composés chez les individus exposés ainsi que leur rôle primordial dans la dynamique des populations font des SPD de poisson des organismes modèles tout à fait pertinents dans le cadre de l'évaluation de la toxicité des polluants au sein de l'environnement aquatique. Parmi ceux-ci, la truite arc-en-ciel présente l'avantage d'être facile d'élevage, commercialement disponible et d'avoir un faible taux de mortalité en conditions contrôlées. L'élevage et la reproduction de cette espèce sont entièrement maîtrisés. De plus, le développement de l'espèce est bien documenté (Velsen, 1987). L'utilisation de la truite comme animal modèle est préconisée par l'OCDE (OECD, 1992, 1998). Les salmonidés sont des espèces adaptées aux études *in situ*, en mésocosme (Brinkmann *et al.*, 2013), mais aussi

18. SPD : maladie de l'empoisonnement du saumon.

en laboratoire pour des expositions par voie dissoute et par contact à des graviers artificiellement contaminés en composés hydrophobes.

Principales approches utilisées en écotoxicologie pour déterminer la réponse des organismes

L'écotoxicologie est une science jeune qui, à ses débuts, a emprunté de nombreux concepts et méthodes à la toxicologie. Les travaux menés au cours des années 1970 étaient principalement orientés vers la compréhension et la prédiction du comportement des composés chimiques dans l'environnement et de leur capacité à interagir avec les membranes biologiques. Par la suite, au cours des années 1980, de nombreux chercheurs ont tenté d'évaluer les effets toxiques des contaminants sur les organismes vivants. Utilisant toujours les préceptes de la toxicologie, ils ont développé des tests de toxicité aiguë, des bioessais et des tests monospécifiques basés sur la relation dose-effet. Dans les années 1990, de nombreux écotoxicologues ont dénoncé le manque de représentativité et la faible pertinence écologique de ces approches. Ainsi, de nouveaux outils appelés bio-indicateurs et biomarqueurs ont été développés (Clements et Rohr, 2009). Rattachés à différents niveaux de la classification taxonomique (microalgues, mollusques, crustacés, poissons…), ces bio-indicateurs sont représentatifs du milieu naturel. Ils permettent de détecter un dysfonctionnement de l'écosystème. Ils ont permis d'avancer dans la compréhension des phénomènes de pollution en confrontant des études en laboratoire à des observations et études en milieu naturel, contaminés ou non. Il est maintenant bien établi que la caractérisation chimique de l'exposition aux polluants n'est pas suffisante et que des approches multidisciplinaires couplant chimie et biologie doivent être menées pour permettre de lier la présence de contaminants et leurs impacts toxiques putatifs (van der Oost *et al.*, 2003). Dans ce but, l'utilisation d'indicateurs d'alerte précoce, représentatifs des effets biologiques des contaminants sur les organismes ou biomarqueurs, s'est considérablement développée au cours des dernières décennies. Ainsi, les effets à des niveaux hiérarchiques élevés sont toujours précédés de changements précoces au niveau du génome (van der Oost *et al.*, 2003). Parallèlement à l'amélioration des méthodes de biologie moléculaire, le développement des technologies « omiques » est en plein essor, dans tous les domaines de la biologie, depuis le début des années 1990 où ces techniques ont commencé à émerger. La génomique et la protéomique ont été décrites comme capables d'aider les biologistes à répondre à toutes les questions et ainsi à décrypter tous les mécanismes utilisés par les organismes pour répondre aux modifications de leur environnement. Les techniques moléculaires ont été largement appliquées aux mammifères, notamment humains, mais leur utilisation en écotoxicologie aquatique est très récente. Dans ce contexte, le terme « écotoxicogénomique » a été proposé pour décrire les études analysant la réponse adaptative à l'exposition toxique aux niveaux transcriptomique, protéomique et métabolomique (Snape *et al.*, 2004). La transcriptomique va s'intéresser au

niveau d'expression des gènes et à leur implication dans les mécanismes mis en jeux par les organismes aquatiques pour faire face à une contamination de leur environnement. La protéomique est complémentaire de la transcriptomique et se focalise plus précisément sur les protéines présentes dans les cellules en envisageant leur quantité, leur activité, leur dégradation. La métabolomique, beaucoup plus récente, permet de déterminer l'ensemble des métabolites présents dans une cellule et ainsi pouvoir décrypter comment les contaminants peuvent perturber certaines voies métaboliques essentielles au fonctionnement cellulaire.

Afin de répondre aux restrictions éthiques, techniques et scientifiques des modèles *in vivo*, y compris les tests sur les embryons et larves de poissons, des études *in vitro* se sont révélées comme une bonne alternative. Les cultures de cellules primaires et les lignées cellulaires constituent les principaux composants des méthodes *in vitro*. Les cultures primaires sont des cellules obtenues à partir d'organes prélevés sur un organisme et qui sont conservées dans des conditions contrôlées de laboratoire pendant une courte période (quelques jours).

Une lignée cellulaire est une culture cellulaire établie de manière permanente. La lignée proliférera indéfiniment si elle dispose d'un moyen et d'un espace appropriés pour sa croissance (Tárnok et Ulrich, 2001). Les lignées cellulaires diffèrent des cultures cellulaires par le fait qu'elles sont immortalisées. Elles ont été développées à partir de cultures cellulaires, et elles diffèrent génétiquement et morphologiquement des cellules desquelles elles sont originaires.

Les cultures cellulaires et les lignées cellulaires ont joué un rôle important dans l'étude des processus physiologiques, physiopathologiques et de différenciation cellulaire spécifique (Tárnok et Ulrich, 2001). Elles permettent d'étudier les altérations de la structure, de la biologie et de la composition génétique de la cellule dans des environnements contrôlés et définis. Les lignées cellulaires sont souvent préférées pour les études de toxicologie et devraient devenir plus pertinentes à l'avenir car d'autres modèles sont nécessaires pour réduire l'utilisation d'animaux pour la recherche et les essais en toxicologie.

Modalités de transfert des pesticides et des métaux dans les organismes aquatiques

Les organismes aquatiques, qu'ils soient vertébrés ou invertébrés, sont potentiellement exposés aux polluants par diverses voies biologiques. L'entrée de molécules peut se faire sous formes dissoutes dans l'eau ou en fonction de leurs caractéristiques chimiques, sous formes adsorbées sur des éléments particulaires organiques (matières en suspension), minéraux voire synthétiques (cas de matières plastiques). Dans ce cas, l'entrée des polluants dans l'organisme va essentiellement concerner des tissus biologiques comme la peau, les branchies et le tube digestif (van der Oost *et al.*, 2003). Pour les végétaux aquatiques, notamment les microalgues, les polluants pénétreront à travers les parois cellulaires sous forme dissoute ou seront adsorbés à la surface des cellules algales comme chez les diatomées. L'exposition

par la voie trophique, correspondant à l'absorption par l'animal de ressources alimentaires (ingestion d'organismes du phyto-, zoo-plancton, végétaux, proies animales), constitue une autre modalité d'exposition des organismes. Les voies d'entrée des contaminants sont naturellement modulées en fonction de divers paramètres externes (variables écologiques dépendantes 1) de conditions macro- et microclimatiques, 2) du cycle saisonnier, 3) du type de milieu aquatique dans lequel vit l'animal) ou internes à l'organisme (influences du niveau d'ontogenèse, du statut physiologique…). En outre, il faut rappeler que les niches écologiques occupées par les organismes aquatiques sont multiples et susceptibles de varier pour une même espèce, durant la vie de l'organisme. Ainsi, l'observation des effets des polluants se trouve confrontée à la complexité des modalités d'exposition des organismes aquatiques à ces substances reliées aux multiples caractéristiques éco-éthologiques de ces espèces. Des observations réalisées sur une espèce sont, de fait, difficilement transposables à d'autres espèces. Il est donc indispensable d'éviter les généralisations (ou tout du moins d'apporter des précautions indispensables en termes de conclusion) quant aux effets de telle ou telle substance *via* les données acquises par l'observation d'un nombre restreint d'espèces.

Au côté de l'exposition directe et trophique, il est aussi important de considérer l'exposition par l'intermédiaire des sédiments qui renferment nombre de contaminants et présentent des caractéristiques de contamination différentes de celles des masses d'eaux. Les sédiments constituent un substrat pertinent à étudier, notamment pour l'étude du développement embryonnaire des poissons (Martyniuk *et al.*, 2020).

Nombre de facteurs sont à prendre en compte pour décrire et interpréter la bioaccumulation des polluants chez les organismes aquatiques : 1) la taille du corps, 2) l'état reproductif, 3) la biotransformation, en lien avec la structure moléculaire des substances, mais aussi en fonction de l'espèce considérée, 4) les teneurs en lipides des organismes, et 5) l'organe considéré. En effet, selon la nature des polluants et leurs propriétés physico-chimiques (hydrophiles, hydrophobes par exemple), ils ne s'accumuleront pas en même quantité dans les différents organes (branchies, foie, rein, muscle, cerveau…). On parle alors d'organotropisme.

Selon leur nature, les contaminants sont donc susceptibles d'entrer dans l'organisme et d'interagir avec les molécules biologiques. Ils peuvent alors engendrer des effets toxiques au sein des tissus.

Principaux effets des polluants

Des effets non spécifiques apparaissent quels que soient les contaminants auxquels les organismes aquatiques peuvent être exposés dans leur environnement. Ainsi l'exposition de poissons, notamment à des pesticides, conduit à des effets multiples comme le stress oxydatif, la génotoxicité, l'apoptose et l'inflammation. Ces réponses sont non spécifiques et elles apparaissent aussi pour d'autres catégories de contaminants comme les antibiotiques ou encore les métaux. Ces

effets toxiques sont également associés à la dégradation des lipides constitutifs des membranes biologiques et à des atteintes sur les organes impliqués dans la détoxication et l'excrétion des polluants tels le foie et le rein (Farag *et al.*, 2021).

Le stress oxydatif

En fonction du degré de contamination des organismes, la fonction de défense contre les contaminants est mobilisée. Elle correspond à une série de réactions qui vont assurer la métabolisation des composés internalisés par l'organisme. Chez les vertébrés, le foie constitue l'organe principalement mobilisé. Chez les bivalves, c'est la glande viscérale qui jouera ce rôle. La métabolisation des xénobiotiques peut avoir pour effet une augmentation de la production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) conduisant, en fonction des concentrations absorbées par les organismes, à un stress oxydatif.

Le stress oxydatif peut être défini comme la situation dans laquelle la concentration en ERO à l'état d'équilibre est augmentée de manière importante, entraînant une modification oxydative des constituants cellulaires ainsi qu'une perturbation du métabolisme cellulaire et des voies de régulation (Lushchak, 2016). Ces dernières années, de nombreuses publications mettent en avant que de multiples stress environnementaux, qu'ils soient physiques, biologiques ou chimiques, engendrent un stress oxydatif chez les organismes aquatiques. C'est le cas notamment des pesticides et des métaux.

Chez les organismes aérobies, la majorité de l'oxygène consommé (90 %) est utilisée pour produire de l'énergie sous forme d'ATP notamment au niveau de la chaîne mitochondriale de transport des électrons. Cet oxygène est alors réduit sous la forme d'eau par le cytochrome C oxydase au sein de ces organites, sans qu'il y ait pour autant génération d'ERO (Skulachev, 2012). Le reste de l'oxygène consommé peut être réduit pour donner de l'anion superoxyde ($O_2^{\bullet -}$), lui-même pouvant être réduit successivement en H_2O_2, en radical hydroxyle ($HO^{\bullet}$) et en eau. Ces molécules, dans leur ensemble, sont plus actives que l'oxygène et sont donc décrites sous le terme d'ERO. L'homéostasie de ces ERO se fait dans la cellule par l'intermédiaire des enzymes antioxydantes telles que les superoxydes dismutases, la catalase ou la glutathion peroxydase, mais aussi par l'oxydation du glutathion ou des métallothionéines. Les ERO ont été décrites comme jouant un rôle majeur dans la signalisation cellulaire, mais aussi dans de nombreuses fonctions biologiques essentielles à la vie des organismes telles que la croissance, la différenciation, la reproduction ou encore la transduction du signal liée aux hormones (Scandalios, 2005). Cependant, une quantité trop importante d'ERO conduit à un stress oxydatif qui peut engendrer des effets cellulaires importants, par exemple des modifications ou des cassures de l'ADN, ou encore la peroxydation des lipides.

Les métaux, comme le cuivre (Cu) qui est beaucoup utilisé comme antifongique en agriculture et en viticulture (notamment biologique) contre le mildiou, peuvent aussi provoquer un stress oxydant. L'effet du Cu peut être lié au fait qu'il

entre dans la fonction catalytique de nombreuses enzymes. Son homéostasie est notamment assurée par les métallothionéines et permet de limiter sa concentration intracellulaire. Une augmentation importante de cette concentration cellulaire provoque un dépassement des systèmes de défense.

D'autres familles d'herbicides agissent plutôt en inhibant l'activité des enzymes antioxydantes, comme les SOD ou la catalase. C'est le cas par exemple du diethyldithiocarbamate (DDC), l'aminotriazole ou le Roundup®, une formulation herbicide à base de glyphosate (Lushchak, 2016).

La génotoxicité

La génération d'ERO peut conduire à des effets génotoxiques. Les effets le plus souvent décrits sont des cassures, simples ou double-brin, au niveau de l'ADN, la modification de bases du fait, notamment, de l'oxydation de ces dernières (8-oxo-guanosine). Ainsi des dommages à l'ADN ont été observés dans les globules rouges d'épinoches à trois épines (*Gasterosteus aculeatus*) exposées à des concentrations environnementales (0,88 et 1,75 µg/L) de chlorpyrifos (insecticide organophosphoré utilisé en France jusqu'en 2020) (Marchand *et al.*, 2017).

L'immunotoxicité

L'immunité intervient dans la défense de l'organisme contre des agents pathogènes microbiens (bactéries, virus, macro-parasites) ou particulaires. De nombreuses études montrent que la réponse immunitaire des poissons peut être altérée en présence de pesticides tels que le chlorpyrifos, le diazinon ou encore le phosalone (Díaz-Resendiz *et al.*, 2015).

Les globulines et les immunoglobulines (IgM) sont aussi des familles de protéines dont les concentrations varient en présence de pesticides. Par exemple, des concentrations de 0,75 µg/L de chlorpyrifos durant 24 heures provoquent une diminution significative d'IgM dans le plasma de la carpe commune *C. carpio* (Díaz-Resendiz *et al.*, 2015). De façon générale, les pesticides peuvent affecter nombre d'autres paramètres sanguins ; les plus couramment mesurés comprennent la numération érythrocytaire totale, la numération leucocytaire totale ou encore les taux d'hémoglobine et d'hématocrite.

Certaines substances ont comme molécule cible l'enzyme acétylcholinestérase (AChE), bloquant son activité. Des données expérimentales obtenues suite à une exposition de poissons à du diazinon et du diazoxon montrent une augmentation de la concentration en acétylcholine, ce qui diminue significativement la prolifération des lymphocytes (Girón-Pérez *et al.*, 2008).

Des articles récents indiquent également que la modulation des capacités immunitaires chez les organismes aquatiques peut suivre la variabilité temporelle de l'application des différents traitements (impacts agricoles plus forts au printemps, par exemple). À l'heure actuelle, les données fournies ne sont pas suffisantes pour confirmer l'impact des produits chimiques agri-viticoles sur le système

immunitaire des organismes aquatiques sans interaction avec d'autres facteurs environnementaux. Ainsi, en été, les marqueurs immunitaires semblent être corrélés non seulement avec la contamination de l'eau mais aussi avec d'autres facteurs environnementaux (pathogènes, dégradation physique des champs, nutriments, température…). Néanmoins, les paramètres immunitaires donnent une vision globale de la santé des organismes et des écosystèmes, ce qui explique l'intérêt croissant pour ces biomarqueurs dans l'évaluation des risques environnementaux.

La neurotoxicité et ses conséquences sur le comportement

De nombreuses études rapportent également des modifications du comportement des individus exposés à des contaminants organiques et métalliques. Les modifications du comportement sont déclenchées par des signaux externes en lien avec la perception sensorielle des organismes ou par des signaux internes liés à des modifications physiologiques. Le comportement, en raison du faible coût énergétique de son ajustement et de la rapidité à laquelle il est modifié, permet une adaptation des organismes aux changements environnementaux, à la fois sur le court et le long terme (Danchin *et al.,* 2021). Les réponses comportementales étudiées en écotoxicologie sont de natures diverses, comme une modification des capacités de nage, des réponses d'évitement en présence de substances, des mouvements operculaires accrus, des tentatives de saut, une perte d'équilibre, une modification du comportement de fuite. Les pyréthrinoïdes entraînent des changements du comportement de nage chez les poissons dès l'exposition à des concentrations environnementales de l'ordre du ng/L (Ullah *et al.*, 2018). Des poissons exposés deux à trois semaines à des insecticides organophosphorés, tels que le malathion et le diazimon, peuvent montrer des modifications de leur comportement locomoteur (par exemple ataxie, paralysie) (Díaz-Resendiz *et al.*, 2015).

Certains composés peuvent agir sur le système nerveux olfactif et, en conséquence, sur les processus physiologiques et comportementaux sous-jacents. Ainsi, pour une diversité d'espèces de poissons, l'exposition à des pesticides (entre autres) peut interférer avec le système olfactif et perturber ainsi les processus vitaux déterminant la survie et le succès reproductif des individus (Tierney *et al.*, 2010). Le mode d'action des pesticides sur le comportement des poissons varie selon les molécules et leur concentration. Il est également important de prendre en compte la formulation des pesticides pour appréhender leurs effets. Ainsi le Roundup®, formulation renfermant du glyphosate, est 10 fois plus toxique que le glyphosate seul.

Soulignons encore que des troubles du comportement de nage ont aussi été significativement corrélés avec l'expression de l'enzyme aspartoacylase (ou ASPA), elle-même impliquée dans le fonctionnement cellulaire au niveau du cerveau. Des liens étroits ont pu être établis entre la régulation négative de l'ASPA et les réponses comportementales chez les poissons exposés à des concentrations environnementales de pyréthrinoïdes (Kaviraj *et al.*, 2014).

Les atteintes au développement

Comme nous l'avons vu précédemment, la métabolisation des xénobiotiques mène à la production d'ERO conduisant, en fonction des concentrations absorbées par les organismes, à un stress oxydant qui va toucher dans un premier temps la fonction hépatique, mais qui pourra toucher également d'autres tissus, en fonction des niveaux de contamination auxquels sont exposés les organismes.

Une publication récente montre que l'exposition à un fongicide du groupe des sulfonamides (l'amisulbrom) perturbe la fonction cardiaque des embryons de danios (Ma et Li, 2021). En effet, ce composé conduit à des expressions anormales de gènes impliqués dans le développement cardiovasculaire du poisson, associées à des œdèmes péricardiques, à des baisses du rythme cardiaque et à une distribution anormale de l'hémoglobine dans l'organisme.

L'étude des mécanismes d'action des pesticides passe également par l'utilisation de techniques permettant de localiser leur accumulation dans les tissus. L'exposition de poissons zèbres (*Danio rerio*) à des concentrations sublétales de sulfate de cuivre (40 et 140 µg/L) conduit, au bout de 4 jours, à des altérations au niveau des noyaux des hépatocytes (Paris-Palacios et Biagianti-Risbourg, 2006).

Les produits phytosanitaires peuvent également agir sur la fonction de croissance des organismes aquatiques. Ainsi, les pyréthrinoïdes entraînent chez les poissons des perturbations de la croissance (ralentissement) et du développement (Ullah *et al.,* 2018). Les composés lipophiles (comme les organochlorés) tendent à s'accumuler dans le cerveau et les gonades de poissons, avec un passage également dans le sac vitellin, entraînant des effets toxiques chez les poissons au stade larvaire, à l'origine de mortalités et de malformations (Martyniuk *et al.*, 2020).

Les perturbations endocriniennes

Un perturbateur endocrinien (PE) est une substance chimique d'origine étrangère à l'organisme, naturelle ou artificielle, capable de perturber la production d'hormones naturellement produites par un organisme au travers de nombreux mécanismes tels que la synthèse, la sécrétion, le transport, l'action et l'élimination d'hormones. Les PE peuvent ainsi mimer l'action d'hormones en se substituant à elles dans les mécanismes biologiques qu'elles contrôlent (la reproduction, le développement et le comportement par exemple). Les PE peuvent également bloquer l'action d'hormones (antagonistes) en se fixant sur des récepteurs avec lesquels les hormones interagissent, ou au contraire favoriser l'action d'hormones (agonistes). Parmi les composés ayant une activité PE, on retrouve notamment des insecticides (DDT, DDE, dieldrine, toxaphène, lindane, méthoxychlore, endosulfan, pyréthrinoïdes…), des fongicides (par exemple la vinclozoline) ou encore des herbicides (linuron, diuron…).

Les PE ont des conséquences sur la santé des organismes et de leur progéniture. Deux indicateurs sont particulièrement étudiés, notamment chez les poissons : 1) l'induction de la vitellogénine, une protéine exprimée dans le foie, qui n'est

normalement sécrétée que chez les femelles mais qui peut l'être chez les mâles et les juvéniles lorsque des individus sont exposés à des PE (Martyniuk *et al.*, 2020), 2) la formation d'ovotestis, correspondant à des gonades qui renferment à la fois des cellules caractéristiques des ovaires et des testicules. De façon générale, les organismes exposés à des PE présentent une réduction de la taille des gonades, des changements au niveau des caractères sexuels, un retard de la maturité sexuelle et des désordres hormonaux (Martyniuk *et al.*, 2020). Ainsi, des poissons mâles exposés à des doses environnementales de pesticides organochlorés présentent une diminution de la quantité de spermatozoïdes matures, qui sont également moins mobiles et moins rapides. De telles perturbations par les PE entraînent dans certains cas une baisse de la fécondité et donc une réduction du succès de reproduction chez les poissons, voire un changement du sexe-ratio dans les populations. Au stade embryo-larvaire, on observe également une diminution du taux d'éclosion d'œufs.

Les atteintes neurotoxiques

Les perturbateurs neurotoxiques sont définis comme « des composés, capables d'agir en tant qu'agonistes ou antagonistes ou d'altérer la synthèse et/ou le métabolisme des neuropeptides, des neurotransmetteurs ou des neurohormones et qui modifient ensuite divers processus physiologiques, comportementaux ou hormonaux, affectant la capacité des animaux à se reproduire, à se développer et à croître ou à faire face à d'autres stress et à d'autres situations » (León-Olea *et al.*, 2014). Les pesticides organochlorés (OC) et organophosphorés (OP) font partie de cette famille de composés. Ces pesticides sont capables de traverser la barrière hémato-encéphalique de façon à exercer leurs effets au niveau du système nerveux central. Ils peuvent alors se bioaccumuler dans le cerveau à des niveaux pouvant dépasser ceux d'autres tissus. Classiquement, ce sont les stades embryonnaires et juvéniles qui montrent la plus grande sensibilité à l'exposition à de tels perturbateurs.

Les néonicotinoïdes sont des insecticides développés dans les années 1980. Les trois principales molécules sont 1) l'imidaclopride (IMI), une molécule de première génération, qui est aussi la plus utilisée, 2) la clothianidine (CLO), et 3) le thiaméthoxame (THM). Les néonicotinoïdes interfèrent avec le système nerveux des insectes et montrent un haut degré de sélectivité pour les récepteurs acétylcholine nicotiniques (nAChRs). Cependant, ils peuvent se retrouver dans le compartiment aquatique suite une dérive de pulvérisation, au ruissellement, à l'apport de feuilles traitées et à la décomposition de plantes dans l'eau. Classiquement, les invertébrés aquatiques sont plus sensibles que les vertébrés (Anderson *et al.*, 2015).

L'inhibition du fonctionnement mitochondrial

Certains pesticides utilisés en viticulture, comme les strobilurines, sont des inhibiteurs de la chaîne respiratoire mitochondriale. Ils sont utilisés comme fongicides et comportent six molécules majeures : l'azocystrobine, la pyraclostrobine, la trifloxystrobine, la fluoxastrobine, la picoxystrobine et le krémoxim-méthyl (Zhang *et al.*, 2020). Ces composés ont une grande solubilité dans l'eau et peuvent donc

se retrouver dans les écosystèmes aquatiques à des doses de quelques dizaines de µg/L. Leur action ubiquiste dirigée contre le métabolisme mitochondrial fait qu'ils ont potentiellement une toxicité pour un large panel d'organismes terrestres et aquatiques. Chez les poissons, des études sur *Danio rerio* montrent des atteintes histologiques au niveau du foie et des gonades, ainsi qu'une inhibition de la reproduction, de même qu'un stress oxydant et des dommages à l'ADN chez l'adulte (Cao *et al.*, 2016). Au stade précoce de développement, une dérégulation de l'expression des cytokines et des chimiokines provoquant une perturbation du système immunitaire, ainsi qu'une perturbation du développement larvaire, a été observée (Mao *et al.*, 2020). Les strobilurines, en réduisant l'activité des mitochondries, provoquent ainsi une diminution de la croissance et des mouvements de nage. Cependant, la majorité de ces études ont porté sur des doses plus importantes que celles classiquement retrouvées dans l'environnement et de ce fait, les mécanismes de toxicité de ces composés restent encore largement à définir.

Facteurs modulant la réponse des organismes

Certaines variables environnementales, qu'elles soient biotiques ou abiotiques, sont susceptibles de modifier la réponse des organismes aquatiques aux polluants. C'est le cas par exemple des caractéristiques physico-chimiques de l'eau et notamment sa phase particulaire. Il a ainsi été montré que les toxicités de métaux tels que le cuivre ou encore de l'arsenic varient selon les quantités en matières organiques dissoutes que renferme l'eau. De même, le pH peut modifier l'ionisation et donc la sorption des polluants sur les particules. Il a aussi été montré que la tolérance à l'arsenic des poissons augmentait avec la température de l'eau (Kumari *et al.*, 2017). L'importance de ce paramètre température est d'autant plus importante à prendre en compte dans le contexte actuel de changement climatique. En effet, les écosystèmes aquatiques sont fortement soumis au changement climatique global, avec des conséquences profondes sur l'hydrologie à travers ses influences sur les processus physiques et chimiques. Une étude récente a été menée chez le poisson rouge *Carassius auratus* exposé expérimentalement à un cocktail de pesticides (S-métolachlore, isoproturon, linuron, atrazine-deséthyl, aclonifen, pendiméthaline et tébuconazole) communément trouvés dans les rivières du sud-ouest de la France, à faible ou forte dose, dans deux conditions thermiques différentes : une température estivale commune (22 °C) ou une température élevée enregistrée pendant des vagues de chaleur (32 °C) (Jacquin *et al.,* 2019). Cette étude a mis en évidence que la température élevée aggravait les effets des pesticides aux niveaux moléculaire et cellulaire, entraînant des effets génotoxiques (taux de micronoyaux) et des dommages cellulaires plus importants au niveau des branchies et du foie (apoptose, inflammation, nécrose). Ces résultats suggèrent des effets synergiques potentiels du réchauffement climatique et de la pollution et soulignent la nécessité d'utiliser des approches de stress multiples pour mieux prévoir les impacts des contaminants, seuls ou en mélanges, sur les organismes aquatiques.

Les changements climatiques vont ainsi se répercuter sur les compartiments biologiques des écosystèmes : leur impact n'est généralement pas limité et atteint la plupart du temps l'ensemble des compartiments biologiques, depuis les producteurs primaires planctoniques jusqu'aux niveaux les plus élevés des réseaux trophiques (Goberville *et al.*, 2010). De nombreuses publications pointent l'effet combiné du changement climatique et des pressions anthropiques sur la *fitness* des individus (Dam, 2013), l'abondance des espèces, leur cycle de vie, ainsi que leur impact sur la structure et le fonctionnement des écosystèmes aquatiques (Brun *et al.*, 2019).

Les effets d'un contaminant peuvent également dépendre de la molécule elle-même, de sa concentration, mais aussi de ses propriétés chimiques (structure moléculaire, log Kow…) ou encore de sa spéciation. Ainsi, la spéciation chimique d'une molécule aura un effet direct sur sa capacité à être internalisée par les cellules, à se bioaccumuler et donc à engendrer des effets toxiques. Enfin, les conséquences observées lors de contaminations peuvent aussi dépendre de l'organisme considéré. Car il existe des différences de réponse inter-espèces en fonction des traits morphologiques et phénologiques des espèces, de la richesse en lipides de leurs tissus, de leur régime alimentaire, mais aussi des caractéristiques de leur habitat. Il a par exemple été montré que des poissons planctonivores bioaccumulent plus l'arsenic que des poissons omnivores ou piscivores (Kumari *et al.*, 2017).

Orienter les actions de réduction à la source grâce au suivi des réponses biologiques

Le Syndicat intercommunal du bassin d'Arcachon groupe 12 communes autour du bassin d'Arcachon et de son principal affluent, la Leyre. Il anime depuis 2010 le réseau REMPAR (Réseau opérationnel de suivi et d'expertise sur la microbiologie, les macropolluants et les micropolluants au niveau du bassin d'Arcachon et de ses bassins-versants) en partenariat avec l'Agence de l'eau Adour-Garonne, l'université de Bordeaux et les autres gestionnaires du territoire.

Ce réseau s'articule autour de 5 axes :

- la connaissance des usages sur notre territoire pour mieux comprendre les voies d'entrées des contaminants ;
- les suivis chimiques et bactériologiques au sein de la lagune et sur les principaux cours d'eau afférents ;
- l'aide au développement d'outils en matière d'écotoxicologie ;
- les actions concrètes de gestion et de réduction à la source ;
- la sensibilisation à la préservation de la qualité des eaux et la diffusion des données et connaissances acquises par le réseau.

À travers plus de 10 ans de suivi des micropolluants, le REMPAR a ainsi montré dans les eaux de surface une présence récurrente de pesticides, et plus particulièrement d'herbicides, ainsi que de certains métaux comme le cuivre.

Les recherches en écotoxicologie s'avèrent indispensables dès que l'on cherche à prioriser les effets de ces pressions anthropiques sur les hydrosystèmes et à rendre le plus efficace possible nos actions de réduction à la source des contaminants. Le suivi physico-chimique est essentiel à la connaissance de notre empreinte sur le milieu mais ne peut se suffire à lui-même. Il faut pouvoir comparer les taux mesurés dans l'environnement à des

seuils d'effets biologiques pour évaluer les risques pour l'écosystème. Or, bon nombre de molécules aujourd'hui retrouvées dans nos eaux ne possèdent pas ce type de seuils. C'est en particulier le cas pour les produits de dégradation des molécules formulées dans les spécialités commerciales. Ces seuils d'écotoxicité doivent par ailleurs pouvoir prendre en compte les vulnérabilités de l'ensemble de l'hydrosystème, de l'amont jusqu'aux zones côtières de l'aval, dans toute la diversité des organismes qui le composent.

Comprendre pourquoi une population connaît d'importantes fluctuations (comme les herbiers de zostères ou la production d'huîtres creuses dans le bassin d'Arcachon) implique aussi de savoir détecter les différentes atteintes induites par les contaminants tout au long du cycle de vie de l'organisme : des retards dans la reproduction aux comportements de nage aberrant des stades larvaires chez les mollusques filtreurs par exemple. Les gestionnaires ont besoin d'une alerte précise et la plus précoce possible sur les dysfonctionnements dus aux contaminants. En ce sens, les approches allant de l'expression des gènes aux comportements sont nécessaires.

De plus, l'analyse des effets possibles molécule par molécule n'a que peu de sens pour une approche concrète de la qualité des eaux, dans la mesure où les écosystèmes sont soumis à un cocktail de molécules pouvant interagir entre elles. Nous devons pouvoir partir de ce « mélange environnemental » pour définir si ce dernier pose problème et, dans ce cas, quelles sont les molécules pesant le plus de poids dans les effets constatés. Enfin, la notion de bio-indicateur est une notion qui parle au grand public et qui, bien maîtrisée, peut être un outil à la fois d'alerte et de sensibilisation.

Nos attentes, en tant que gestionnaires, restent donc très fortes dans le domaine de l'écotoxicologie et le champ d'études très vaste. Ce chapitre présente bien les méthodes et résultats qui nous sont nécessaires, ainsi que les perspectives de recherches que nous suivrons avec attention.

Témoignage d'Adeline Thévand, animatrice du réseau REMPAR au Syndicat intercommunal du bassin d'Arcachon (SIBA).

Exemple de suivi *in situ* de la réponse aux polluants d'organismes aquatiques : le bassin viticole de Marcillac

Sites d'étude

Au cours de ce paragraphe, nous allons décrire, à titre d'exemples d'approches appliquées sur le terrain, une étude récente réalisée sur une commune du Blayais en Gironde dans le bassin-versant expérimental (BVE) de Marcillac (cf. chapitre 1) (figure 4.1), situé sur le bassin-versant de la Livenne (tributaire de l'estuaire de la Gironde) qui est géré depuis le 1er janvier 2020 par la Communauté de communes de l'Estuaire (CCE). La Livenne et ses affluents constituent des cours d'eau d'importance majeure en ce qui concerne la préservation de la ressource en eau et la protection de l'environnement. Un des objectifs de cette CCE est ainsi la réduction des sources de pollution et le suivi régulier de la qualité des eaux. Ce territoire abrite en effet plusieurs espèces menacées à l'échelle nationale et internationale, dont certains poissons migrateurs (lamproie fluviatile ou anguille d'Europe), dont les effectifs ont fortement diminué depuis le début des années 1980, et des mammifères vulnérables comme le vison ou la loutre d'Europe.

La pression phytosanitaire (calendrier et nature des traitements) et les variations temporelles des concentrations de pesticides dans les eaux du BVE ont été caractérisées dans le cadre du projet PhytoCOTE entre 2017 et 2020 (cf. chapitre 1). Un total de 230 pesticides (incluant les 65 substances actives utilisées sur le BVE), de même que les concentrations en cuivre, ont été suivis mensuellement pendant deux ans dans les eaux de la Livenne (échantillonnages ponctuels et passifs à l'aide de POCIS pour les pesticides), notamment sur 3 stations étudiées dans le cadre du projet. Ces stations décrites dans la figure 4.1 comportent une station L1 en amont du BVE, une station SE à l'exutoire du ruisseau des Souches qui draine la majorité des parcelles viticoles et représente le seul ruisseau permanent dans le BVE, et une station L4 en aval du BVE. Le projet PhytoCOTE a permis de mettre en évidence 1) un gradient amont-aval de contamination par les pesticides et le cuivre des eaux de la Livenne et 2) un apport marqué de pesticides et de cuivre utilisés sur le BVE *via* le ruisseau des Souches (environ 80 % des pesticides avec une majorité de fongicides).

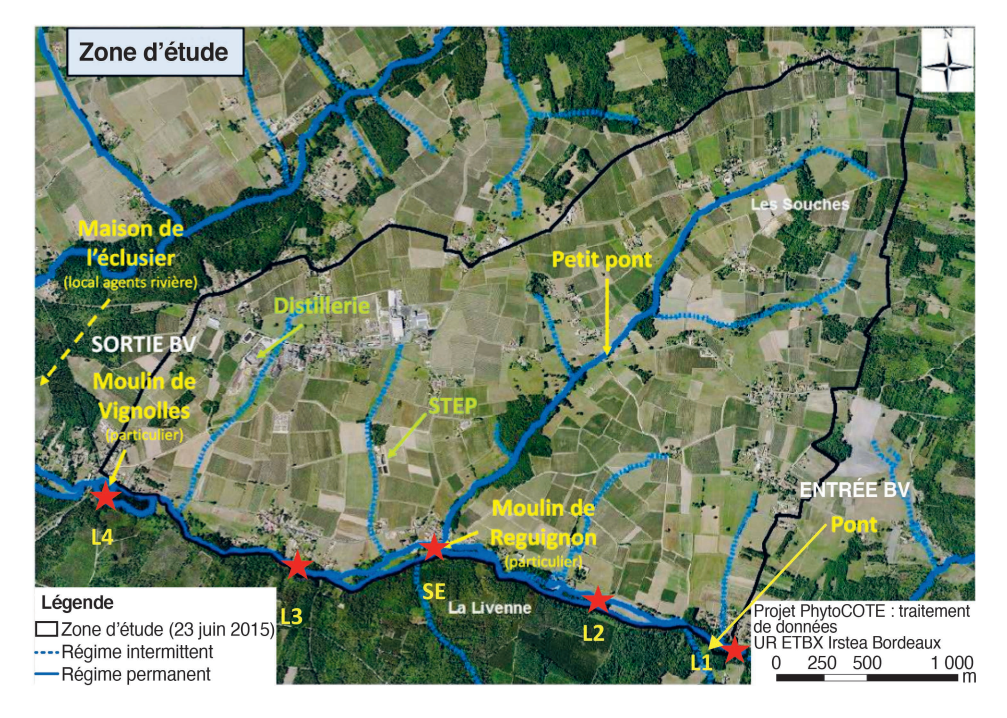


Figure 4.1. Zone d'étude (BVE) avec des indications géographiques en jaune qui permettent de situer les 5 stations de prélèvements du projet PhytoCOTE (d'amont en aval : L1 « Menanteau », L2 « Parodier » SE « Moulin de Reguignon », L3 « Grand village » et L4 « Moulin de Vignolles ») et des indications en vert indiquant certaines sources de contamination additionnelles (STEP = station de traitement des eaux).

Source : © SCAN 25® et BD Carthage®.

Campagnes de terrain et approches expérimentales

Durant les campagnes de terrain, deux types d'organismes ont été étudiés : les diatomées périphytiques (algues d'eau douce) du biofilm et le bivalve d'eau douce *Corbicula fluminea*. Par ailleurs, lors des approches réalisées en laboratoire, nous avons testé l'effet d'échantillons de sol et d'eau prélevés sur les sites du BVE sur des larves de truites arc-en-ciel.

Mesures in situ

Durant les périodes d'échantillonnage, des analyses physico-chimiques ont été réalisées (mesures ponctuelles du débit, de la température, oxygénation, turbidité, pH).

Campagnes de terrain

Au cours de la période s'étendant de mi-février à septembre 2017, des lames de verre de taille standardisée ont été déployées pour permettre aux biofilms de microalgues de se développer à chaque saison sur les cinq sites du gradient amont-aval de contamination des eaux de la Livenne par les pesticides et le cuivre (cf. sites L1, L2, L3, L4 et SE précédemment décrits). Ces lames ont été immergées sur chaque site, sur des périodes d'un mois, dans des cages perforées, de sorte que le développement et la contamination potentielle des biofilms puissent être comparés en fonction de la saison. Après un mois de développement, les biofilms ont été collectés par grattage puis filtrés de manière à concentrer la suspension avant séchage à l'étuve, puis analyse du cuivre bioaccumulé dans les biofilms.

De manière similaire, des corbicules matures (1 à 3 ans), issues d'un site témoin de l'Isle à Montpon-Ménestérol (Dordogne) peu impacté par les contaminants, ont également été exposées dans des cages immergées sur les 5 sites le long de la Livenne à raison d'un mois à chaque saison. À l'issue de ces périodes, les bivalves ont été récupérés et leur concentration en métaux (dont le cuivre) analysée. De manière à évaluer sur cette espèce le degré d'impact des conditions physico-chimiques et de pollution en micropolluants des différents sites, des analyses complémentaires des mécanismes de détoxication des métaux (quantification des métallothionéines) et d'expression relative de gènes d'intérêt impliqués dans des fonctions clés du métabolisme cellulaire (lutte contre le stress oxydant, détoxication, respiration mitochondriale, réparation de l'ADN, apoptose) ont été menées.

Expérimentation en laboratoire

L'eau et le sédiment ont été prélevés en mai 2017 (période correspondant à la saison d'épandage des pesticides) sur les sites L1, L3 et L4. Des larves de truites arc-en-ciel ont été exposées à ces échantillons environnementaux pendant 48 heures comme présenté dans la figure 4.2. Différents paramètres de toxicité ont été ensuite étudiés comme la mortalité, le retard de développement et le comportement de nage des larves.

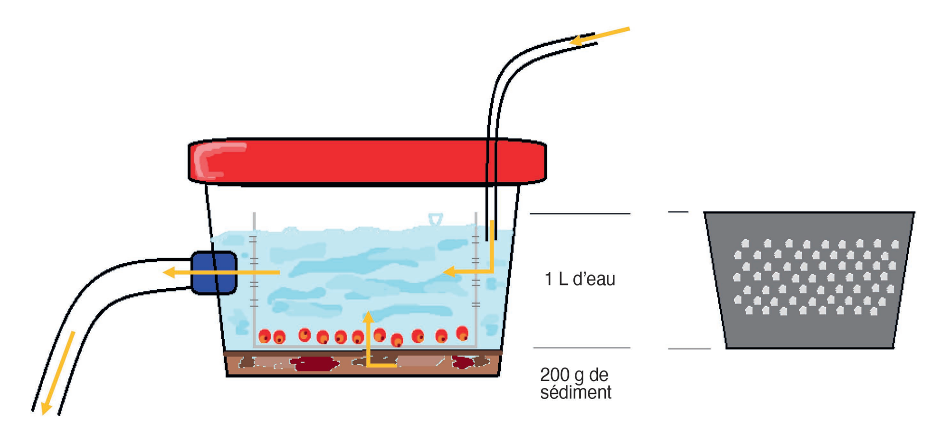


Figure 4.2. Unité expérimentale pour l'exposition des truites arc-en-ciel aux échantillons environnementaux d'eau et sédiment de la Livenne.

Résultats

Conditions physico-chimiques de la Livenne

Les débits mesurés sur la Livenne à chaque période d'échantillonnage montrent des valeurs maximales pour la période hivernale de février-mars (autour de 140 L.s-1), près de 3 fois supérieures à celles mesurées en août. Ces débits sont largement au-dessus de ceux mesurés à la même période sur le ruisseau des Souches (SE), avec un rapport de l'ordre de 20 (figure 4.3). Le débit de SE représente par exemple 3,25 % du débit de la Livenne sur la période de février-mars en comparaison avec le site L4.

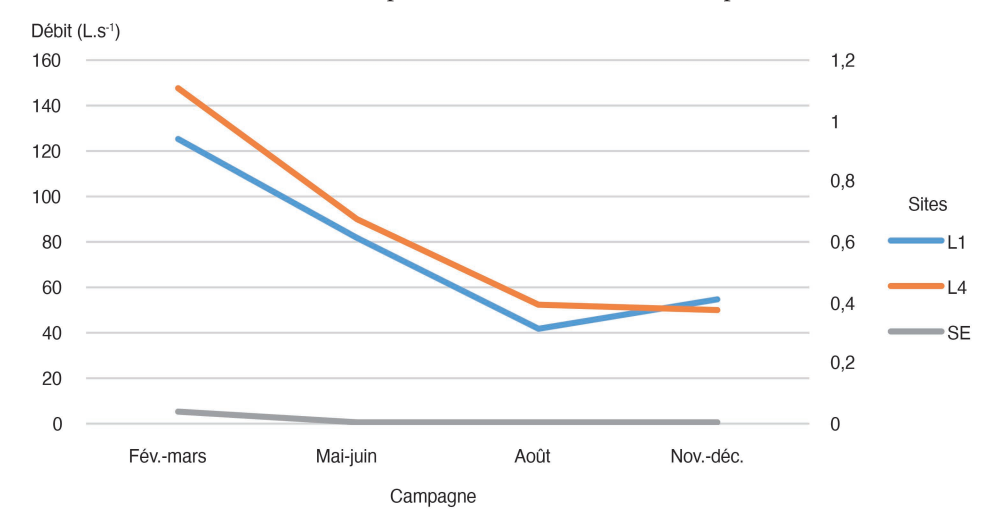


Figure 4.3. Débit de la Livenne ($L.s^{-1}$) et d'un de ses affluents (le ruisseau des Souches, SE) en fonction des sites et des saisons.

Pour la température, celle-ci est maximale sur les périodes de mai-juin et août (entre 16 et 18 °C) pour ensuite descendre autour de 6 °C sur la période de novembre-décembre (figure 4.4). La pluviométrie, quant à elle, est à son maximum sur la

période de novembre-décembre (110 mm) et diminue ensuite pour atteindre un minimum d'environ 14 mm de pluie cumulée sur la période de transplantation estivale, ce qui correspond à une chute de 78 % des précipitations.

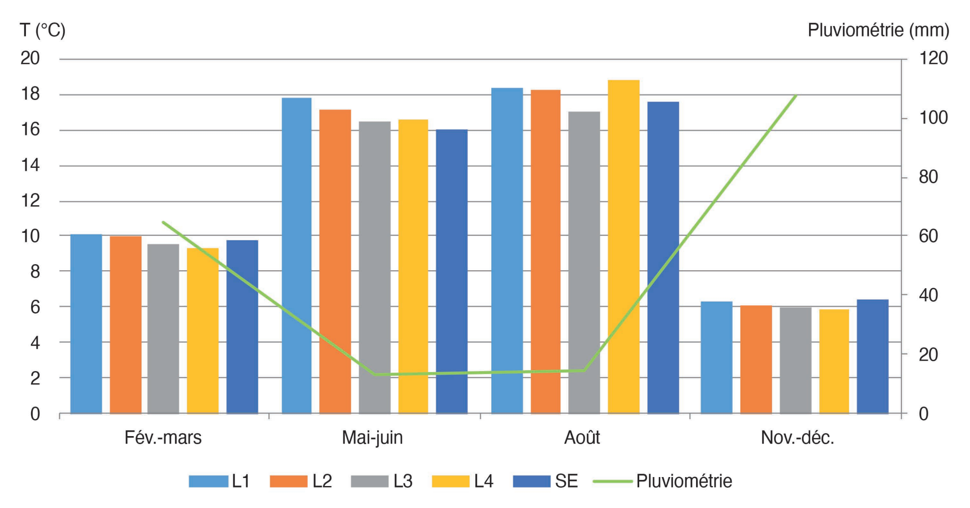


Figure 4.4. Température (°C) et pluviométrie (mm) en fonction des campagnes et des sites.

Sur l'ensemble des campagnes d'encagement, le pH moyen mesuré est plus faible dans le ruisseau des Souches (pH proche de 7) que sur les sites L1 et L2 avec des valeurs comprises entre 7,6 et 7,8 unités pH (figure 4.5). Le pH au site L3 est aussi légèrement inférieur à ceux de L1 et L2 avec un pH de 7,4. La variation annuelle de ce paramètre reste quant à elle très faible pour chacun des sites.

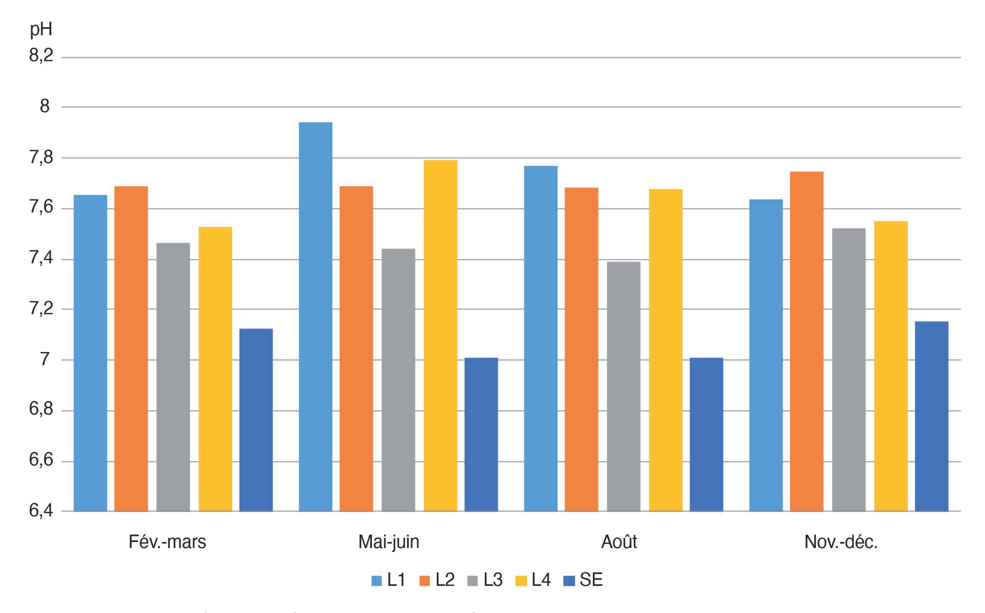


Figure 4.5. pH en fonction des campagnes et des sites.

Les biofilms périphytiques

Durant ce suivi, les biofilms périphytiques ont montré, quelle que soit la saison, des valeurs maximales de concentration en cuivre sur le site SE des Souches, qui draine la majorité des parcelles viticoles. Cette prépondérance du cuivre atteint sa plus forte valeur en été avec 120 mg Cu /kg de biofilm (en poids sec). Cependant le site SE n'est pas le seul contributeur à l'accumulation de cuivre dans les biofilms puisqu'un gradient croissant de concentration en cuivre est visible depuis le site le plus amont, L1, jusqu'au site le plus aval, L4.

Les corbicules

État physiologique

Mortalité des corbicules

Durant la campagne de transplantation en août, période la plus défavorable pour la transplantation des organismes (fortes températures, faibles débits), nous observons une mortalité de 9 % pour les sites L3, L4 et SE, et de 15 % pour L1 et L2. En novembre-décembre, seuls 3 % des individus n'ont pas survécu sur le site L4 le plus en aval et le ruisseau des Souches. Pour les deux autres périodes de transplantation, aucune mortalité n'a été constatée. La mortalité observée chez *C. fluminea* au mois d'août peut s'expliquer par la période d'étiage de la rivière (débit de 52.7 $L.s^{-1}$) qui entraîne une baisse des nutriments, une augmentation de la température et de la turbidité (330 NTU en août contre 270 en février-mars), une concentration des micropolluants et une diminution de l'oxygène dissous (8 mg/L en août contre 10,5 mg/L en février-mars). Néanmoins, ce taux de mortalité reste faible, car il ne dépasse jamais 15 % sur 1 mois de transplantation.

Indices de condition

L'indice de condition (IC) permet de déterminer l'état physiologique des individus en faisant le rapport entre le poids sec de l'organisme entier et le poids sec de la coquille. L'analyse des résultats montre qu'il y a essentiellement un effet saison sur cet indice, lié aux périodes de croissance et de reproduction, généralement au printemps et parfois également en automne (figure 4.6). Pour le site de référence, l'IC est significativement supérieur au printemps par rapport à la période de février-mars, passant de près de 3 à 4,5, qui correspond à une phase de croissance et de maturation des gonades. Au mois d'août, cet indice chute à 2,6, un phénomène lié à la période de ponte des individus. Ensuite, cet indice remonte en novembre-décembre à 3,6. Pour les individus transplantés sur la Livenne, cette tendance se retrouve sur le site L1. En revanche, l'augmentation de croissance printanière puis la chute de poids en août perdent en significativité en allant de l'amont vers l'aval de la rivière (sites L2, L3 et L4).

L'augmentation de l'indice de condition au printemps est liée à la croissance et la reproduction des corbicules. En effet, la nourriture disponible au printemps est plus importante, favorisant la croissance des individus, et la température augmente également (10 °C en février-mars contre 18 °C au printemps), ce qui accroît le métabolisme des individus, et donc leur activité de filtration. Ceci,

associé à l'allongement de la photopériode, est à l'origine également de la phase de reproduction (Baudrimont *et al.*, 1997). Cette phase entraîne une maturation des gonades qui participe à la prise de masse des individus. Cette prise de masse peut secondairement conduire à une dilution des micropolluants accumulés dans les organismes, en particulier en mai-juin où les écarts de l'IC sont les plus importants (+ 50 % par rapport à l'hiver). Ces valeurs de l'IC à cette période semblent néanmoins diminuer de l'amont vers l'aval le long de la Livenne. Les débits et la température de l'eau étant similaires sur tous les sites de la Livenne, cela suggère des impacts physiologiques sur les individus liés très probablement à la contamination chimique des sites. Pour le ruisseau des Souches, il n'y a pas de différence significative d'IC entre les périodes de transplantation. De plus, l'IC est toujours plus faible sur ce site que sur les autres. Cela peut être dû à un apport en nutriments plus faible tout au long de l'année, mais aussi à un impact plus important des traitements phytosanitaires sur le métabolisme des corbicules. Cet IC présente les valeurs les plus basses en phase hivernale, notamment en février-mars. Cette période correspond en réalité à la période de repos des organismes qui ont une activité métabolique/physiologique réduite compte tenu des conditions physico-chimiques du milieu, notamment des faibles températures.

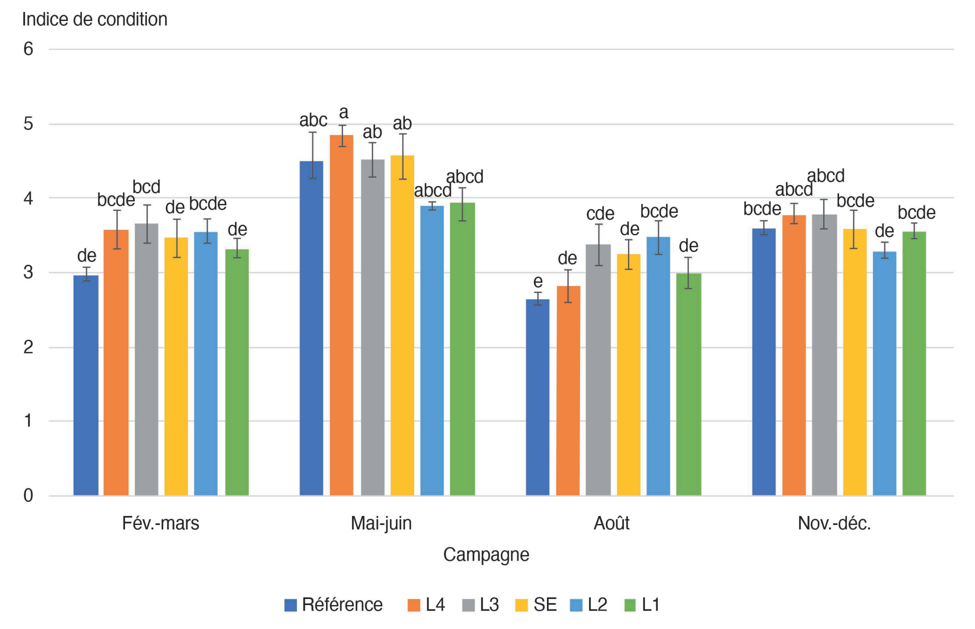


Figure 4.6. Indices de condition des corbicules sur 5 sites et 4 périodes de prélèvement sur l'année 2017, moyenne ± SEM (n = 5), p-value = 0,05. La référence correspond aux individus provenant du site d'origine, avant encagement *in situ* pour la période concernée.

Bioaccumulation des métaux dans la masse viscérale

La masse viscérale de *Corbicula fluminea* représente environ 70 % de la masse de l'individu. Elle comprend essentiellement la glande digestive et la gonade de l'individu. Cet

organe a donc un rôle important dans la régulation et l'élimination des xénobiotiques (Guo et Feng, 2018), mais également dans la reproduction. Au cours de cette étude, 13 métaux ont été analysés (Al, As, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb, Se, V et Zn).

Afin d'illustrer les variations observées en fonction des sites et des saisons, nous avons représenté en figure 4.7 les données de bioaccumulation de l'aluminium (Al). La bioaccumulation de cet élément est significativement différente de celle mesurée dans les individus de référence, avec des concentrations maximales mesurées à différentes périodes de l'année selon les sites. Par exemple, pour les sites L1, L4 et SE, les valeurs maximales sont mesurées en août, ce qui semble cohérent avec la variation des indices de condition vus précédemment. En revanche, pour le site L2, ces valeurs sont maximales plutôt en hiver, et pour le site L3, elles restent stables durant l'hiver et le printemps et même jusqu'au mois d'août. Par contre, toutes les valeurs sont minimales pour la période de novembre-décembre.

La concentration en cuivre (Cu) varie peu au cours de l'année. Au printemps, les sites de la Livenne présentent des bioaccumulations plus importantes que pour les individus de référence, et les valeurs maximales sont mesurées en novembre-décembre. Ces faibles variations sont liées au caractère essentiel de ce métal pour les bivalves et à leur capacité importante de régulation de cet élément.

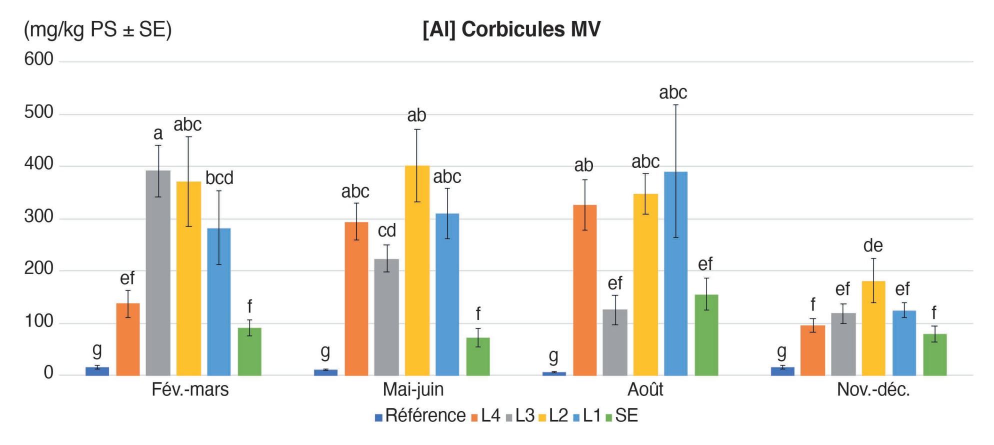


Figure 4.7. Concentration en aluminium (Al) dans la masse viscérale de *C. fluminea* en fonction des sites et des périodes d'engagement, moyenne ± SEM (n = 5), p-value = 0,05.

La bioaccumulation des métaux dans les masses viscérales des *Corbicula fluminea* montre des accumulations plus importantes généralement au printemps et en été. Ces accumulations sont en partie liées aux précipitations qui lessivent les sols et qui peuvent apporter des éléments métalliques vers les cours d'eau, mais également aux traitements phytosanitaires (contenant potentiellement Al, Cu et Mn) ayant lieu à ces périodes. En effet, même si les conditions physico-chimiques du milieu favorisent l'activité métabolique et la croissance des individus comme expliqué précédemment, la prise de masse n'empêche pas les concentrations métalliques d'augmenter, ce qui signifie qu'il y a bien des apports.

Réponse des métallothionéines (MTs)

L'analyse de la concentration en MTs est réalisée sur les mêmes individus que ceux utilisés pour la bioaccumulation. Ces protéines sont impliquées dans la régulation des métaux essentiels, la détoxication des métaux non essentiels et la réponse au stress oxydant (Baudrimont *et al.*, 2003). Leur lien avec le Cd, le Zn, le Cu et le Hg a été démontré (Bourdineaud *et al.,* 2006).

Une augmentation progressive des concentrations est observée sur tous les sites de février-mars à août, avec des maximales en moyenne de 73 nmol Hg · g-1 (poids frais) en août contre 42 nmol Hg · g-1 (poids frais) en février-mars. L'effet site n'est pas significatif. Aucune corrélation n'a pu être établie entre les concentrations en MTs et les concentrations en métaux dans les corbicules, laissant supposer l'action d'autres facteurs non métalliques qui impactent l'expression des métallothionéines puisque celles-ci répondent également au stress oxydant. L'augmentation estivale peut également être liée à la reproduction des individus (Baudrimont *et al.*, 1997).

Analyse de l'expression des gènes

À titre d'exemple, nous avons sélectionné quelques gènes de manière à illustrer la variation de leur expression en fonction des sites et des périodes de d'encagement. Nous pouvons observer pour les gènes *cox1* et *sod1* (figure 4.8), impliqués respectivement dans le métabolisme mitochondrial et la gestion du stress oxydant, des variations d'expression similaires sur les sites de la Livenne et le ruisseau des Souches. En effet, sur l'ensemble de l'année, les expressions de ces gènes ne varient que très peu, hormis pour la période du printemps au cours de laquelle nous observons le même patron d'expression, avec des augmentations d'expression sur les sites L1, L2, L3 et SE par rapport à l'hiver, et des maximums mesurés pour SE et L3 en particulier. L'induction de ces expressions géniques suggère des perturbations liées à la génération d'un stress oxydant à cette période, probablement en lien direct avec les périodes d'épandage des pesticides, mais cela ne se retrouve pas sur le site L4.

Pour les gènes *p53* et *bcl2*, les profils d'expression sont différents. Les variations au cours de l'année montrent des expressions maximales de *p53* en août et novembre-décembre. Ces expressions sont cohérentes avec les mortalités observées surtout au mois d'août. En effet, *p53* intervient dans la régulation du cycle cellulaire et permet le déclenchement de l'apoptose, c'est-à-dire de la mort cellulaire en cas d'ADN trop endommagé. Pour *bcl2*, gène pro-apoptotique, les expressions maximales sont retrouvées au printemps et en août, mais sans variation particulière en fonction des différents sites.

Globalement les analyses montrent que le ruisseau des Souches est différent des autres sites de la Livenne. Il est plus impacté par les parcelles viticoles et son débit est 20 fois inférieur à celui de la Livenne. Des pics de concentrations en éléments traces métalliques (Cd, Ni, Mn) y sont observés, ainsi que des expressions géniques significatives notamment de *cox1*, *atp13*, *12s*, *sod1* et *sod2* par rapport aux autres sites, et ceci principalement au printemps, au moment des

épandages de phytosanitaires. Cela démontre la présence d'un stress oxydant et la perturbation du métabolisme mitochondrial pouvant impacter sévèrement les organismes vivant dans ce cours d'eau. Le stress oxydant peut conduire par exemple à la péroxydation des lipides membranaires, effet déjà observé chez *C. fluminea* exposée au Roundup®, contenant du glyphosate (Taghavi *et al.*, 2011).

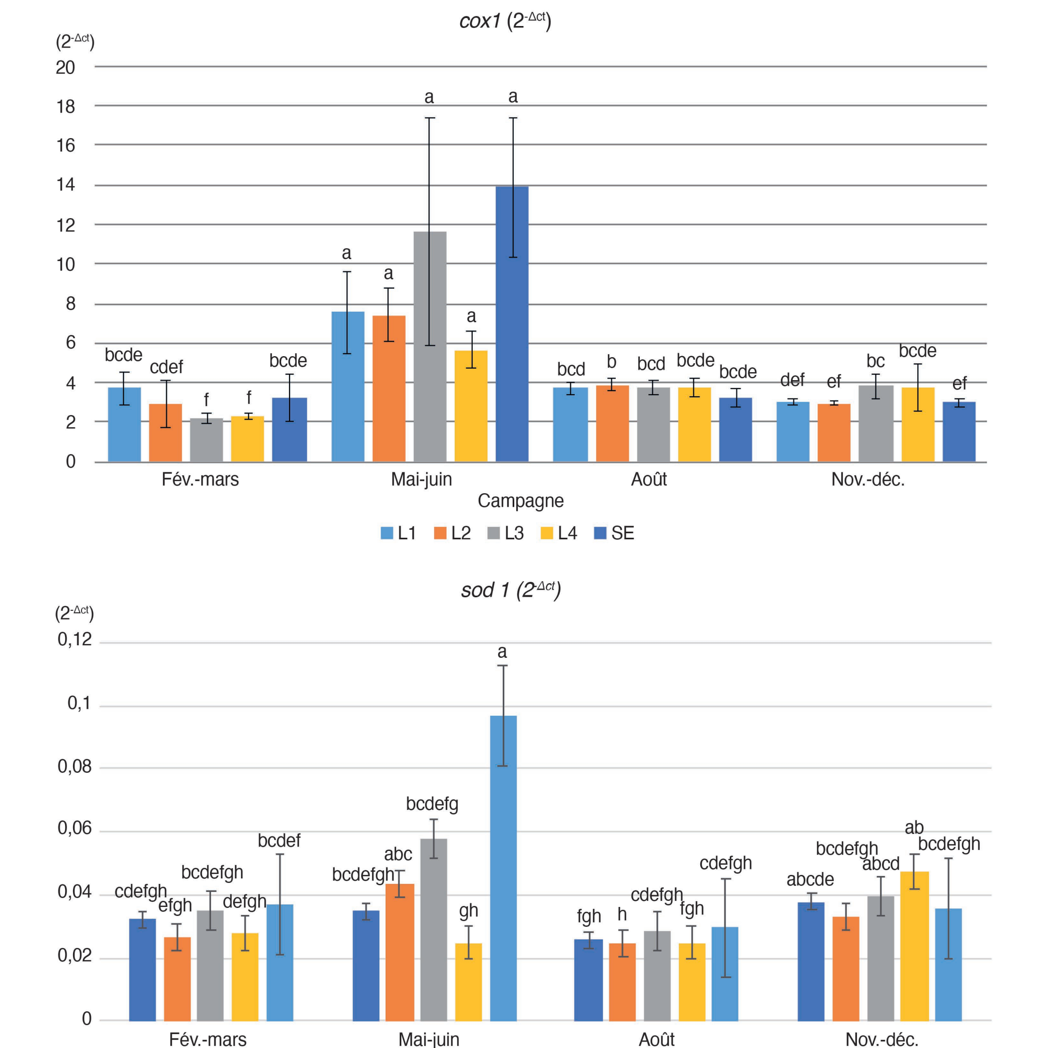


Figure 4.8. Expression de *cox1* et *sod1* en fonction des campagnes en écart d'expression par rapport à la référence ($2^{-\Delta c}$).

Les larves de truite arc-en-ciel

Aucune mortalité des larves exposées pendant 48 heures aux eaux de surface et aux sédiments n'a été observée, quel que soit le site. Les larves exposées aux conditions du site L4 présentent une réduction significative de la taille de la tête ainsi qu'un retard de résorption du sac vitellin comparé au contrôle pouvant indiquer

un retard de développement. Les larves exposées montrent également des modifications du comportement natatoire (figure 4.9). Une réduction de la vitesse de nage des larves exposées au site L3 est observée. En revanche, une augmentation de la mobilité des larves exposées aux conditions L1 et L4 a été constatée après une stimulation lumineuse. Ces modifications comportementales pourraient être la conséquence de lésions ou d'inhibition au niveau du système nerveux. Ces résultats sont appuyés par l'inhibition de l'expression de gènes codant pour l'acétylcholinestérase, une enzyme impliquée dans la transmission de l'influx nerveux. Une perturbation des fonctions neuronales et neuromusculaires est probable.

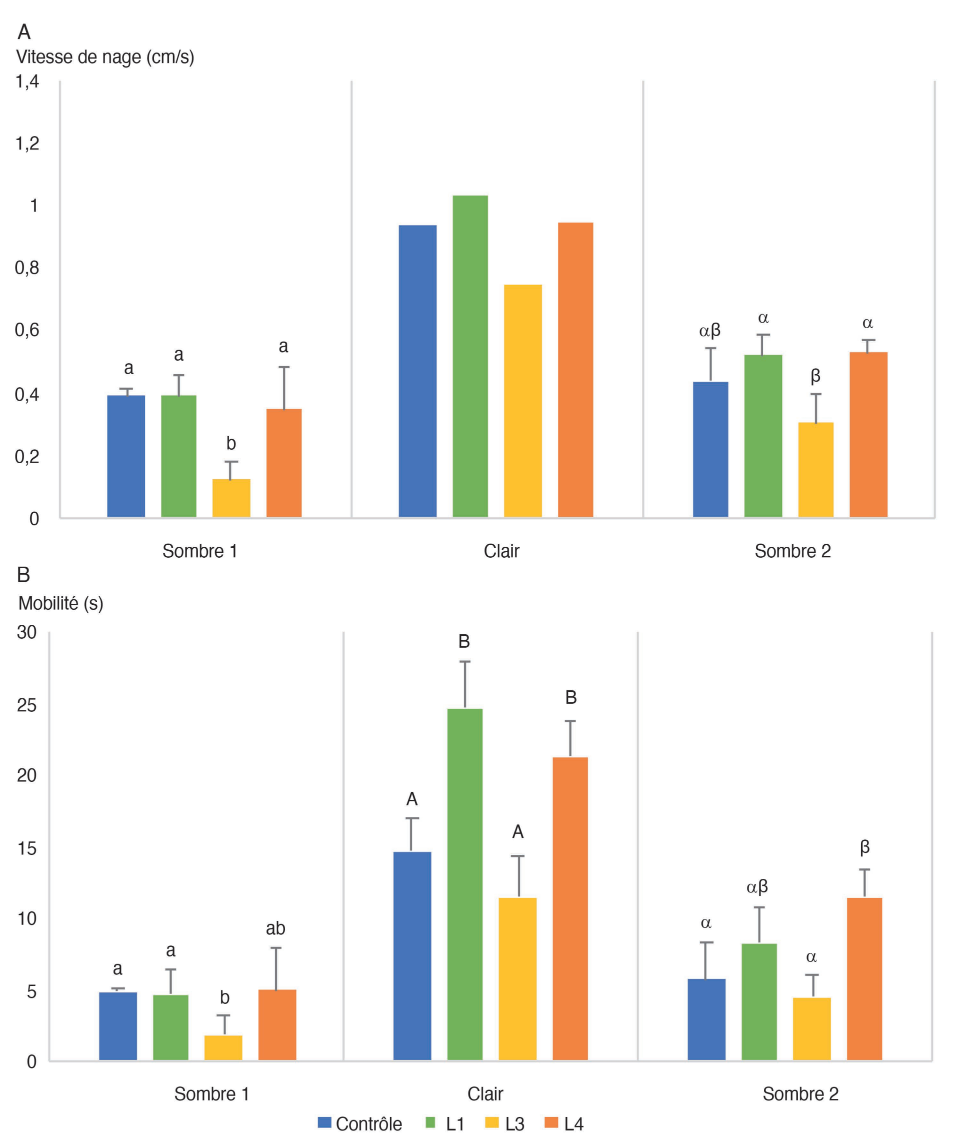


Figure 4.9. Vitesse de nage (cm/s) (A) et temps de mobilité (B) des larves exposées pendant 48 heures aux échantillons environnementaux d'eau et sédiment de la Livenne. Les différentes lettres indiquent des différences significatives entre chaque condition (Mean ± SD, N = 3, ANOVA, $p < 0,05$).

Conclusion et perspectives

Nous venons de voir que de nombreux organismes aquatiques peuvent être impactés dans le milieu naturel par des contaminants tels que les métaux ou les pesticides. Cependant, les études menées à ce jour mettent en évidence que tous les groupes d'organismes aquatiques ne sont pas renseignés à la même hauteur concernant les effets potentiels d'exposition à ces molécules sur différentes fonctions biologiques. Dans ce contexte, il faut noter que les effets sur les poissons dominent largement la littérature scientifique.

En termes d'effets, des points communs ressortent, comme l'induction de stress oxydant et ce, quelles que soient les molécules. Au côté de ces effets génériques, des mécanismes d'actions plus spécifiques ont également pu être détectés, notamment concernant le risque perturbateur endocrinien. Ce risque cible largement la fonction de reproduction, ce qui est logique compte tenu de son importance écologique. Cependant, les effets mis en évidence concernent très majoritairement des études portant sur les substances actives utilisées seules et donc très peu souvent associées à quelques-uns de leurs métabolites. Ainsi, les effets des préparations complètes réellement utilisées dans l'environnement sont peu investigués. Il en va de même pour les effets des cocktails de contaminants présents en même temps et à des doses différentes au sein des écosystèmes.

Les conséquences de ces perturbations sont le plus souvent bien étudiées à l'échelle moléculaire, tissulaire ou individuelle, mais leurs effets sur les populations concernées ne sont pas connus. De même, les doses utilisées sont pour la grande majorité bien au-delà de celles retrouvées dans l'environnement. Les réponses de biomarqueurs d'état des fonctions vitales pourraient, pour la grande majorité d'entre elles, être complétées par des observations à l'échelon supérieur, à savoir l'organisme utilisant des marqueurs intégrateurs (pour exemple : métabolisme énergétique et comportement de nage, immunité et challenges bactériens ou viraux, marqueurs de reprotoxicité et capacité de reproduction…).

Enfin, certaines molécules sont certes très renseignées en termes d'effets, mais aujourd'hui interdites d'utilisation (cas de l'atrazine par exemple). *A contrario*, certains polluants émergents demeurent très peu étudiés et de nombreuses questions continuent de se poser sur leur écotoxicité. C'est le cas notamment des nanoformulations de pesticides ou encore des nanoparticules métalliques, pourtant de plus en plus retrouvées dans les écosystèmes aquatiques.

Les études pourraient s'orienter désormais vers des critères plus fonctionnels pour estimer la contamination des milieux aquatiques. Pour les diatomées présentes dans les biofilms, l'effet des contaminants des cours d'eau pourrait être abordé de manière plus dynamique à travers leurs impacts sur l'architecture des diatomées au sein des biofilms qui conditionnent leur constitution, leur composition et par conséquent leur rôle en tant que compartiment primaire des eaux courantes.

Les études en laboratoire devraient favoriser les approches en mésocosmes en utilisant des concentrations en contaminants plus représentatives de celles rencontrées

dans l'environnement, mais aussi des combinaisons de polluants plutôt que des substances seules afin d'appréhender les effets cocktails. En effet, les organismes aquatiques sont soumis dans leur environnement à plusieurs polluants en même temps et des effets synergiques ou antagonistes existent entre ces composés, susceptibles de moduler les effets observés, mais aussi la réponse de ces organismes.

Pour conclure, de nombreuses approches permettent de décrypter le lien entre présence et effets des polluants sur les organismes aquatiques. Elles permettent aussi de mieux définir les seuils de toxicité de ces composés vis-à-vis de la faune aquatique. Ces données sont essentielles aux gestionnaires de l'eau pour l'évaluation des risques et la mise en place de politiques de réduction de l'imprégnation ou la remédiation des hydrosystèmes afin d'atteindre le bon état écologique demandé dans le cadre de la Directive européenne cadre sur l'eau (DCE).

Références bibliographiques et numériques

Anderson J.C., Dubetz C., Palace V.P., 2015. Neonicotinoids in the Canadian aquatic environment : a literature review on current use products with a focus on fate, exposure, and biological effects. *Science of The Total Environment* 505, 409-422. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.09.090.

Baudrimont M., Andrès S., Durrieu G., Boudou A., 2003. The key role of metallothioneins in the bivalve *Corbicula fluminea* during the depuration phase, after an *in situ* exposure to Cd and Zn. *Aquatic Toxicology* 63(2), 89-102. https://doi.org/10.1016/s0166-445x(02)00134-0.

Baudrimont M., Lemaire-Gony S., Ribeyre F., Métivaud J., Boudou A., 1997. Seasonal variations of metallothionein concentrations in the Asiatic clam (*Corbicula fluminea*). *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C* 118(3), 361-367. https://doi.org/10.1016/S0742-8413(97)00157-6.

Beaugrand G., Edwards M., Legendre L., 2010. Marine biodiversity, ecosystem functioning, and carbon cycles. *Proceedinds of the National Academy of Sciences* 107(22), 10120-10124. https://doi.org/10.1073/pnas.0913855107.

Beaugrand G., Goberville E., Luczak C., Kirby R.R., 2014. Marine biological shifts and climate. *Proceedinds of the Royal Society B* 281(1783), 20133350. http://doi.org/10.1098/rspb.2013.3350.

Bertucci A., Pierron F., Gourves P.Y., Klopp C., Lagarde G., Pereto C. *et al*., 2018. Whole-transcriptome response to wastewater treatment plant and stormwater effluents in the Asian clam, *Corbicula fluminea*. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 165, 96-106. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.08.090.

Bourdineaud J.P., Baudrimont M., Gonzalez P., Moreau J.L., 2006. Challenging the model for induction of metallothionein gene expression. *Biochimie* 88(11), 1787-1792. https://doi.org/10.1016/j.biochi.2006.07.021.

Brinkmann M., Hudjetz S., Kammann U., Hennig M., Kuckelkorn J., Chinoraks M. *et al*., 2013. How flood events affect rainbow trout : evidence of a biomarker cascade in rainbow trout after exposure to PAH contaminated sediment suspensions. *Aquatic Toxicology* 128-129, 13-24. https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2012.11.010.

Brun P., Stamieszkin K., Visser A.W., Licandro P., Payne M.R., Kiorboe T., 2019. Climate change has altered zooplankton-fuelled carbon export in the North Atlantic. *Nature Ecology & Evolution* 3, 416-423. https://doi.org/10.1038/s41559-018-0780-3.

Cao F., Zhu L.Z., Li H., Yu S., Wang C., Qiu L., 2016. Reproductive toxicity of azoxystrobin to adult zebrafish (*Danio rerio*). *Environmental Pollution* 219, 1109-1121. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.09.015.

Chapman P.M., Wang F., 2001. Assessing sediment contamination in estuaries. *Environmental Toxicology and Chemistry* 20(1), 3-22. http://dx.doi.org/10.1002/etc.5620200102.

Clements W.H., Rohr J.R., 2009. Community responses to contaminants : using basic ecological principles to predict ecotoxicological effects. *Environmental Toxicology and Chemistry* 28(9), 1789-1800. https://setac.onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1897/09-140.1.

Dam H.G., 2013. Evolutionary adaptation of marine zooplankton to global change. *Annual Review of Marine Science* 5, 349-370. http://dx.doi.org/10.1146/annurev-marine-121211-172229.

Danchin E., Giraldeau L.A., Cézilly F., 2021. *Écologie comportementale : cours et questions de réflexion*. Paris : Dunod, 672 p. (coll. Sciences Sup).

Delcour I., Spanoghe P., Uyttendaele M., 2015. Literature review : impact of climate change on pesticide use. *Food Research International* 68, 7-15. http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2014.09.030.

Díaz-Resendiz K.J.G., Toledo-Ibarra G.A., Girón-Pérez M.I., 2015. Modulation of immune response by organophosphorus pesticides : fishes as a potential model in immunotoxicology. *Journal of Immunology Research* 1-10. https://doi.org/10.1155/2015/213836.

Farag M.R., Alagawany M., Bilal R.M., Gewida A.G.A., Dhama K., Abdel-Latif H.M.R. *et al.*, 2021. An overview on the potential hazards of pyrethroid insecticides in fish, with special emphasis on cypermethrin toxicity. *Animals* 11(7). 1880. https://doi.org/10.3390/ani11071880.

Garthoff B., 2005. Alternatives to animal experimentation : the regulatory background. *Toxicology and Applied Pharmacology* 207(2), 388-392. https://doi.org/10.1016/j.taap.2005.02.024.

Géba E., Aubert D., Durand L., Escotte S., La Carbona S., Cazeaux C. *et al.*, 2020. Use of the bivalve *Dreissena polymorpha* as a biomonitoring tool to reflect the protozoan load in freshwater bodies. *Water Research* 170, 115297. https://doi.org/10.1016/j.watres.2019.115297.

Girón-Pérez M.I., Zaitseva G., Casas-Solis J., Santerre A., 2008. Effects of diazinon and diazoxon on the lymphoproliferation rate of splenocytes from Nile tilapia (Oreochromis niloticus) : the immunosuppresive effect could involve an increase in acetylcholine levels. *Fish & Shellfish Immunology* 25(5), 517-521. https://doi.org/10.1016/j.fsi.2008.07.002.

Goberville E., Beaugrand B., Sautour B., Tréguer P., SOMLIT Team, 2010. Climate-driven changes in coastal marine systems of Western Europe. *Marine Ecology Progress Series* 408, 129-147. https://borea.mnhn.fr/fr/climate-driven-changes-coastal-marine-systems-western-europe.

Gold C., Feurtet-Mazel A., Coste M., Boudou A., 2003. Impacts of Cd and Zn on the development of periphytic diatom communities in artificial streams located along a river pollution gradient. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 44(2), 189-197.

Guo X., Feng C., 2018. Biological toxicity response of Asian Clam (*Corbicula fluminea*) to pollutants in surface water and sediment. *Science of the Total Environment* 632 : 56-70. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.03.019.

Jacquin L., Gandar A., Aguirre-Smith M., Perrault A., Le Hénaff M., de Jong L. *et al.*, 2019. High temperature aggravates the effects of pesticides in goldfish. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 172, 255-264. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.01.085.

Kaviraj A., Gupta A., 2014. Biomarkers of type II synthetic pyrethroid pesticides in freshwater fish. *BioMed Research International* 2014, 1-7. https://doi.org/10.1155/2014/928063.

Kumari B., Kumar V., Sinha A.K., Ahsan J., Ghosh A.K., Wang H. *et al*., 2017. Toxicology of arsenic in fish and aquatic systems. *Environmental Chemistry Letters* 15(1), 43-64. https://doi.org/10.1007/s10311-016-0588-9.

León-Olea M., Martyniuk C.J., Orlando E.F., Ottinger M.A., Rosenfeld C.S., Wolstenholme J.T., Trudeau V.L., 2014. Current concepts in neuroendocrine disruption. *General and Comparative Endocrinology* 203, 158-173. https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2014.02.005.

Lushchak V.I., 2016. Contaminant-induced oxidative stress in fish : a mechanistic approach. *Fish Physiology and Biochemistry* 42(2), 711-747. https://doi.org/10.1007/s10695-015-0171-5.

Ma X., Li W., 2021. Amisulbrom causes cardiovascular toxicity in zebrafish (*Danio rerio*). *Chemosphere* 283, 131236. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.131236.

Mao L.G., Jia W., Zhang L., Zhang Y.N., Zhu L.Z. *et al*., 2020. Embryonic development and oxidative stress effects in the larvae and adult fish livers of zebrafish (*Danio rerio*) exposed to the strobilurin fungicides, kresoxim-methyl and pyraclostrobin. *Science of the Total Environment* 729, 139031. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.139031.

Marchand A., Porcher J.M., Turies C., Chadili E., Palluel O., Baudoin P. *et al*., A., 2017. Evaluation of chlorpyrifos effects, alone and combined with lipopolysaccharide stress, on DNA integrity and immune responses of the three-spined stickleback, *Gasterosteus aculeatus*. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 145, 333-339. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.07.025.

Martyniuk C.J., Mehinto A.C., Denslow N.D., 2020. Organochlorine pesticides : Agrochemicals with potent endocrine-disrupting properties in fish. *Molecular and Cellular Endocrinology 507*, 110764. https://doi.org/10.1016/j.mce.2020.110764.

OECD, 1992. *OECD Guidelines for the testing of chemicals fish early life stage toxicity test, 210. Section 2 : effects on biotic systems*. Paris : Organisation de coopération et de développement économiques (OCDE), 20 p.

OECD, 1998. *OECD Guidelines for the testing of chemicals fish, short-term toxicity test on embryo and sac-fry stages, 212. Section 2 : Effects on biotic systems*. Paris : Organisation de coopération et de développement économiques (OCDE), 20 p.

OECD, 2013. *OECD Guidelines for testing of chemicals. Fish, early-life stage toxicity test, 210*. Paris : Organisation de coopération et de développement économiques (OCDE), 24 p.

Paris-Palacios S., Biagianti-Risbourg S., 2006. Hepatocyte nuclear structure and subcellular distribution of copper in zebrafish *Brachydanio rerio* and roach *Rutilus rutilus* (Teleostei, Cyprinidae) exposed to copper sulphate. *Aquatic Toxicology* 77(3), 306-313. https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2006.01.001.

Pino-Otín M.R., Ballestero D., Navarro E., Gonzalez-Coloma A., Val J., Mainar A.M., 2019. Ecotoxicity of a novel biopesticide from Artemisia absinthium on non-target aquatic organisms. *Chemosphere* 216, 131-146. http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.09.071.

Prygiel J., Coste M., 1998. Mise au point de l'indice biologique Diatomée, un indice diatomique pratique applicable au réseau hydrographique français. *L'Eau, l'industrie, les nuisances*, 211, 40-45.

Scandalios J.G., 2005. Oxidative stress : molecular perception and transduction of signals triggering antioxidant gene defenses. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 38(7), 995-1014. https://doi.org/10.1590/S0100-879X2005000700003.

Silva R.N., Monteiro V.N., Steindorff A.S., Gomes E.V., Noronha E.F., Ulhoa C.J., 2019. Trichoderma/pathogen/plant interaction in pre-harvest food security. *Fungal Biology* 123(8), 565-583. http://dx.doi.org/10.1016/j.funbio.2019.06.010.

Skulachev V.P., 2012. Mitochondria-targeted antioxidants as promising drugs for treatment of age-related brain diseases. *Journal of Alzheimer's Disease* 28, 283-289. https://doi.org/10.3233/JAD-2011-111391.

Snape J.R., Maund S.J., Pickford D.B., Hutchinson T.H., 2004. Ecotoxicogenomics : the challenge of integrating genomics into aquatic and terrestrial ecotoxicology. *Aquatic Toxicology* 67(2), 143-154. https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2003.11.011.

Taghavi L., Merlina G., Probst J.L., 2011. The role of storm flows in concentration of pesticides associated with particulate and dissolved fractions as a threat to aquatic ecosystems. Case study : the agricultural watershed of Save river (Southwest of France), *Knowledge & Management of Aquatic Ecosystems* 400(6), 1-11. https://doi.org/10.1051/kmae/2011002.

Tárnok A., Ulrich H., 2001. Characterization of pressure-induced calcium response in neuronal cell lines. *Cytometry* 43(3), 175-181. https://doi.org/10.1002/1097-0320(20010301)43:3<175::AID-CYTO1046>3.0.CO;2-E.

Tierney K.B., Baldwin D.H., Hara T.J., Ross P.S., Scholz N.L., Kennedy C.J., 2010. Olfactory toxicity in fishes. *Aquatic Toxicology* 96(1), 2-26. https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2009.09.019.

Ullah S., Zuberi A., Alagawany M., Farag M.R., Dadar M., Karthik K. *et al.*, 2018. Cypermethrin induced toxicities in fish and adverse health outcomes : Its prevention and control measure adaptation. *Journal of Environmental Management* 206, 863-871. https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2017.11.076.

Vadeboncœur Y, Power M.E., 2017. Attached algae : the cryptic base of inverted trophic pyramids in fresh waters. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 48, 255-279. https://doi.org/10.1146/annurev-ecolsys-121415-032340.

van der Oost R., Beyer J., Vermeulen N.P.E., 2003. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment : a review. *Environment Toxicology and Pharmacology* 13(2), 57-149. http://doi.org/10.1016/s1382-6689(02)00126-6.

Velsen F.P.J., 1987. Temperature and incubation in Pacific salmon and rainbow trout : Compilation of data on median hatching time, mortality and embryonic staging. *Canadian data report of fisheries and aquatic sciences*, 626.

Zhang C., Zhou T., Xu Y., Du Z., Li B., Wang J. *et al.*, 2020. Ecotoxicology of strobilurin fungicides. *Science of the Total Environment* 742(10), 140611. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.140611.

5

Bioaccumulation des pesticides organiques dans les biofilms de rivière

Betty Chaumet, Nicolas Mazzella, Sébastien Boutry, Nicolas Creusot, Mélissa Éon, Débora Millán-Navarro, Aurélie Moreira, Soizic Morin

Introduction et contexte

Les pesticides sont utilisés en viticulture pour lutter contre les maladies sur les vignes (principalement des fongicides), les ravageurs (insecticides) ou comme désherbant (herbicides) (DeLorenzo *et al.,* 2001). Une fois épandus sur les cultures, ces pesticides ne restent généralement pas sur les plantes ou dans les sols mais rejoignent les milieux aquatiques selon plusieurs voies de transfert possibles. Ils peuvent être transférés par écoulements de surface, le plus souvent accrochés à la matière organique des sols transportée par érosion, ou par écoulements souterrains dits « de drainage ». Par conséquent, lors de forts événements de pluie, les pesticides sont massivement transportés jusqu'aux cours d'eau. La période d'épandage des pesticides en zone viticole s'étend du début du printemps à la fin de l'été.

De nombreuses études ont, par le passé, mis en avant la présence massive de ces pesticides dans les cours d'eau. Par exemple, Rabiet *et al.* (2010) ont mesuré des concentrations en pesticides organiques pouvant atteindre une centaine de $\mu g \cdot L^{-1}$ en période printanière et estivale en zone viticole (Beaujolais, sud-est de la France). Dans le sud-ouest, Bernard *et al.* (2019) ont révélé la présence d'une trentaine de pesticides sur l'ensemble du bassin hydrographique Adour-Garonne, avec des concentrations de l'ordre de quelques $ng \cdot L^{-1}$, jusqu'à hauteur d'une dizaine de $\mu g \cdot L^{-1}$. Les pesticides sont omniprésents dans les cours d'eau où ils peuvent atteindre les organismes aquatiques.

Parmi ces organismes, se trouvent les biofilms périphytiques qui constituent d'excellents bio-indicateurs de la qualité des eaux. Les biofilms sont généralement le premier maillon de la chaîne alimentaire dans les milieux aquatiques où ils sont omniprésents. Ils sont composés de micro-organismes tels que les microalgues, les bactéries, et des champignons qui sont enchâssés dans une matrice extracellulaire (Flemming et Wingender, 2010) qui leur confère une très bonne stabilité (Decho, 2000). De nombreuses études ont déjà mis en avant leur capacité à bioaccumuler un large spectre de contaminants (Huerta *et al.*, 2015 ; Creusot *et al.*, 2020 ;

Bonnineau *et al.*, 2020). Ces organismes réagissent également rapidement à la contamination, notamment du fait de leur cycle de vie très court.

Certaines des molécules utilisées en viticulture et plus largement en agriculture sont très persistantes dans l'environnement ; par conséquent, elles représentent un plus grand risque de toxicité pour le vivant. C'est notamment le cas des grands groupes de molécules tels que les PBT (Persistent Bioaccumulative and Toxic / substances persistantes bioaccumulables et toxiques) ou les PMT (Persistent Mobile and Toxic / substances persistantes mobiles et toxiques) qui font l'objet de suivis réguliers dans le cadre de Reach (règlement n° 1907/2006 : Registration, Evaluation, Autorisation and restriction of Chemicals). Certaines molécules comme la pendiméthaline (herbicide particulièrement hydrophobe) peuvent aussi être persistantes dans l'environnement, peu bioaccumulables de par leurs propriétés physico-chimiques, et présenter de plus un risque toxique élevé en raison de l'exposition permanente des biofilms (Wolfaardt *et al.*, 1998).

La bioaccumulation d'un contaminant dans les biofilms n'implique pas nécessairement la manifestation d'effet toxique. Malgré cela, il peut présenter un risque pour les niveaux trophiques supérieurs.

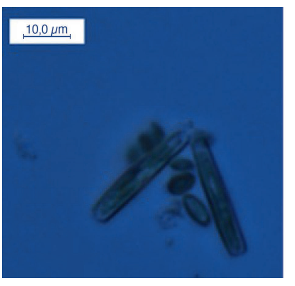
Immobiles dans les cours d'eau, les biofilms se présentent donc comme un outil de suivi environnemental pertinent. Ils sont exposés en continu aux substances dissoutes dans les milieux aquatiques où ils se développent. De plus, ils sont en mesure d'accumuler des contaminants organiques à des doses non négligeables (Zhang *et al.*, 2018), dépassant les seuils acceptables aux yeux de la réglementation. C'est dans ce contexte que se place le projet PhytoCOTE à l'origine de l'étude de cas présentée ici. Ce projet vise à caractériser le lien entre l'usage des pesticides et leur présence et impacts dans l'environnement. L'objectif a été de déterminer l'intérêt de l'usage des biofilms comme bio-indicateurs de la contamination en contexte viticole. Ainsi une étude de terrain a été menée sur la commune de Marcillac (Gironde, Nouvelle-Aquitaine) qui subit une forte pression anthropique liée à la culture des vignes. Cette étude a été réalisée sur quatre périodes distinctes au cours d'une année complète. Plus précisément, cette étude de terrain a eu pour but de caractériser les transferts des pesticides de la colonne d'eau vers le biote (ici les biofilms) et de faire le lien avec les usages des pesticides.

Intérêt des biofilms pour étudier la contamination des cours d'eau par les pesticides organiques

Les biofilms de rivière, des communautés microbiennes complexes utiles pour le diagnostic de la qualité des eaux

Composition

Les biofilms de rivières sont composés de micro-organismes tels que des bactéries, des champignons, des protozoaires, et des microalgues. Parmi elles, on trouve les algues vertes et les algues brunes, dont les diatomées (figure 5.1), qui sont très souvent le groupe algal dominant (Morin *et al.*, 2016).



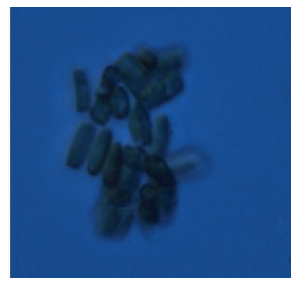



Figure 5.1. Vue au microscope d'organismes d'un biofilm mature.

Ces micro-organismes sont englués dans une matrice polymérique extracellulaire (Extracellular Polymeric Substances : EPS) qui compose de 70 à 98 % du volume du biofilm (Flemming et Wingender, 2010), ce qui lui procure une excellente cohésion. La matrice EPS est composée en très grande partie d'eau qui circule dans l'ensemble du réseau de canaux et pores du biofilm, lui conférant ainsi des propriétés d'élasticité. Elle comprend également des protéines, des polysaccharides, de l'ADN, des substances humiques et des glucides (Romaní *et al.*, 2008) (figure 5.2).

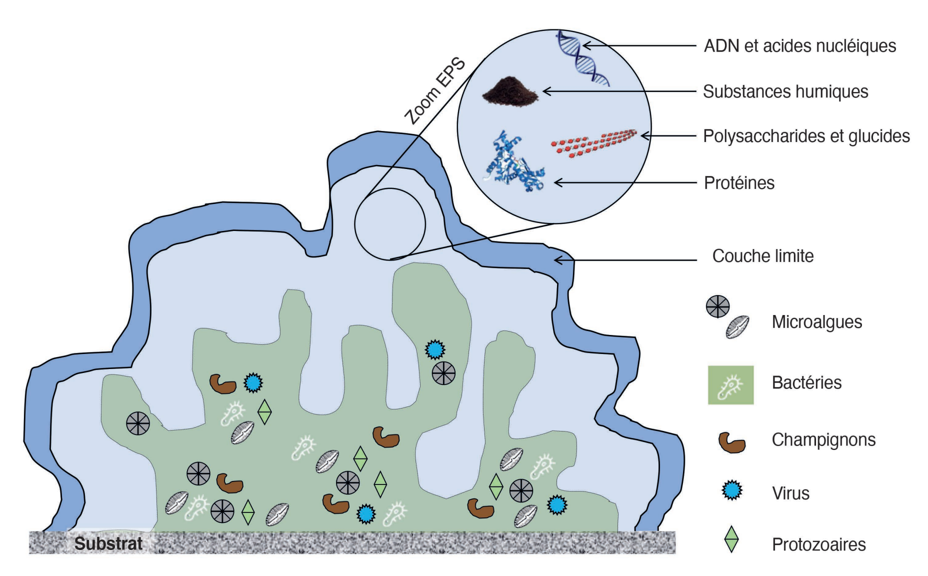


Figure 5.2. Schéma conceptuel de la composition du biofilm, issu de Chaumet (2018).

Ces substances sont en partie produites par les micro-organismes (Sentenac *et al.*, 2021) et proviennent également du milieu environnant. Elles se découpent en deux fractions selon leur poids moléculaire (Aguilera *et al.,* 2008). Les EPS colloïdales sont les plus petites et les plus solubles dans l'eau et représentent la fraction majoritaire car elles sont présentes à 75 % du poids sec total. La seconde fraction, les EPS capsulaires, sont quant à elles constituées de molécules à plus haut poids moléculaire et sont le plus souvent liées aux micro-organismes et plus particulièrement aux frustules (parois siliceuses) des diatomées.

Ces EPS confèrent une grande stabilité au biofilm ce qui lui permet de s'établir en trois dimensions (Decho, 2000). La structure du biofilm peut être décrite comme une succession de couches présentant un gradient d'élasticité depuis la base (organismes adhérents au substrat) jusqu'à la couche superficielle du biofilm à l'interface avec la colonne d'eau, du solide élastique au liquide viscoélastique. Cette dernière couche, appelée couche limite, est en constante interaction avec le milieu et constitue le premier rempart face aux différents intrants et les variations des conditions hydrologiques.

Formation, colonisation

Les biofilms colonisent différents types de substrats, d'origine minérale comme les roches et les sédiments, ou d'origine inorganique comme les macrophytes ou des débris végétaux (bois mort, litière de feuilles…) (Mora-Gómez *et al.,* 2016 ; Bonnineau *et al.,* 2020). Selon le type de substrat colonisé par les biofilms, ils peuvent être distingués en plusieurs types de communauté, à savoir les biofilms planctoniques (dans la colonne d'eau), périphytiques (végétaux, roches) et benthiques (sédiments). Les organismes majoritaires des types de biofilms aquatiques les plus couramment étudiés sont décrits dans le tableau 5.1.

Tableau 5.1. Principaux types de biofilms et groupes taxonomiques dominants (en caractères gras) en fonction des substrats colonisés (adapté de Mora-Gómez *et al.*, 2016).

	Roches/galets	Sédiments	Débris végétaux	Végétaux vivants
Dénominations courantes	Biofilm épilithique, biofilm périphytique, épilithon, périphyton	Biofilm épipsammique, biofilm épipélique, biofilm hyporhéique, épipsammon, épipelon	Biofilm épixylique	Biofilm épiphytique
Caractéristiques des substrats	Rugosité de surface, taille et orientation des pierres	Granulosité et texture, zonation verticale (en profondeur)	Caractéristiques de la matière organique (composition chimique)	Interactions plante-biofilm
Composition de la communauté (groupes majoritaires)	**Algues,** cyanobactéries, bactéries, champignons et protozoaires	**Bactéries,** cyanobactéries, archées, algues, champignons et protozoaires	**Champignons,** bactéries, archées, algues et métazoaires	**Algues,** bactéries, champignons et protozoaires

Le temps de colonisation jusqu'à l'établissement d'une communauté stable peut aller jusqu'à plusieurs semaines. En général, un biofilm est considéré comme mature au bout de 4 semaines de colonisation (Biggs, 1996). Pour former sa structure en 3D, dans un premier temps, les espèces pionnières telles que des bactéries et de petites espèces de microalgues fortement adhérentes au substrat s'établissent, ce qui

constitue la phase d'adhésion (Jenkinson et Lappin-Scott, 2001) (figure 5.3). Puis dans un second temps, le biofilm s'étoffe par division cellulaire et par l'apport de micro-organismes issus de la colonne d'eau à l'agrégat. Pour maintenir une structure cohésive, les micro-organismes produisent la matrice EPS et des substances extracellulaires viennent s'ajouter depuis le milieu (Battin *et al.*, 2003). Une fois que le biofilm atteint sa maturité, des fragments peuvent se détacher, notamment par abrasion liée à des variations dans les conditions hydrologiques du milieu, pour coloniser ensuite d'autres substrats (Flemming et Wingender, 2010).

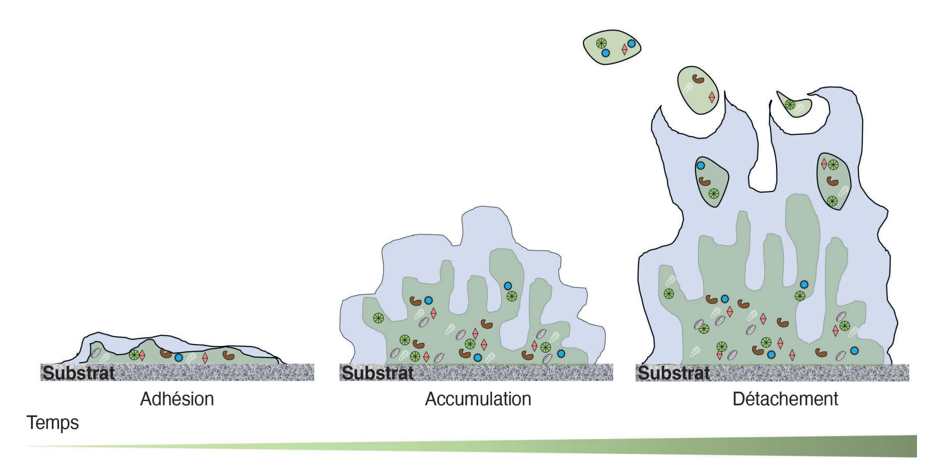


Figure 5.3. Étapes de colonisation du biofilm, d'après Chaumet (2018).

Rôle des biofilms dans l'environnement

Les biofilms sont ubiquistes et sont le lieu de nombreuses interactions entre les micro-organismes des différents règnes qui les composent. Les biofilms se développant sur les substrats organiques sont généralement dominés par des organismes hétérotrophes jouant un rôle majeur dans la décomposition de la matière organique allochtone (« voie brune »), tandis que les biofilms périphytiques, c'est-à-dire se développant sur les substrats minéraux dans la zone euphotique (zone aquatique recevant une quantité de lumière suffisante pour assurer la photosynthèse), sont à dominante autotrophe et contribuent à la production primaire (« voie verte »). Ces derniers se trouvent ainsi à la base de la chaîne trophique dans les milieux aquatiques. Ils représentent une ressource primaire essentielle pour les niveaux trophiques supérieurs tels que les brouteurs (Neury-Ormanni *et al.*, 2020 ; Sentenac *et al.*, 2021). De par leur composition riche en protéines et en lipides (notamment en acides gras oméga 3), ils sont une source de nutriments essentiels pour l'équilibre des écosystèmes aquatiques. Ils jouent également un rôle majeur dans le cycle du carbone en milieu aquatique (Davey et O'Toole, 2000) et dans la rétention de nutriments. Ainsi, les biofilms constituent des matrices efficaces pour l'assimilation, le stockage et la transformation des substances organiques particulaires et dissoutes comme les nutriments, mais ils sont également

en mesure d'accumuler d'autres composés issus du milieu environnant tels que les contaminants organiques et inorganiques. Une fois ces contaminants piégés dans la matrice, s'ils ne sont pas rejetés vers le milieu, leur temps de résidence peut s'allonger, et par conséquent augmenter leur chance d'être biotransformés. En effet, les biofilms jouent un rôle dans la remédiation des milieux aquatiques grâce à leur composition taxonomique. Ils peuvent notamment héberger des bactéries capables de dégrader certaines molécules toxiques et ainsi contribuer à l'épuration du milieu (Desiante *et al.*, 2021). Les biofilms sont aussi capables d'immobiliser ces contaminants (Camotti Bastos *et al.*, 2018), participant ainsi à la détoxification du milieu bien que ce phénomène ne soit que temporaire car réversible (relargage dans le milieu).

Utilisation des biofilms en écotoxicologie

L'organisation des biofilms en regroupements de micro-organismes diversifiés, sensibles aux conditions de leur milieu et en particulier à la pollution chimique, leur confère de nombreux atouts en faveur de leur utilisation en écotoxicologie. Ces communautés dans lesquelles cohabitent des organismes de différents règnes, aux préférences écologiques variées et à la tolérance aux contaminants variables, offrent une diversité de cibles biologiques susceptibles d'être impactées par la multitude de contaminants pouvant atteindre l'environnement aquatique, en lien avec leur mode d'action toxique. Ainsi, les microalgues seront plus directement affectées par la présence de substances à mode d'action herbicide, les champignons par les fongicides, et les petits métazoaires par la présence d'insecticides ou nématicides par exemple (Neury-Ormanni *et al.,* 2016). De plus, la croissance rapide des micro-organismes des biofilms assure une capacité de réponse rapide et sensible à de nombreuses altérations chimiques, physiques et biologiques. Ces propriétés permettent d'observer, sur une échelle de temps relativement courte, des phénomènes biologiques et écologiques complexes qui sont également susceptibles de se produire pour des organismes de plus grande taille, sur des délais bien plus longs. Les biofilms sont ainsi considérés par certains comme des écosystèmes miniatures.

De nombreuses études ont démontré les effets néfastes directs que pouvaient avoir les contaminants organiques et inorganiques sur les diverses composantes du biofilm ou à l'échelle de la communauté, intégrant les effets directs et indirects de ces substances par le biais des relations entre organismes (Proia *et al.,* 2012). Selon la cible des contaminants et la vitesse nécessaire pour atteindre des cibles biologiques (Morin *et al.*, 2018), la réponse en termes d'effet toxique et de rapidité d'action sur les micro-organismes composant le biofilm dépend de la concentration et de la durée de l'exposition. Il est généralement admis que les réponses biologiques sont dose-dépendantes, c'est-à-dire que, pour un descripteur de toxicité donné, la réponse mesurée augmente avec l'intensité croissante d'exposition au contaminant. Le type de réponse biologique le plus adapté à la mise en évidence des impacts néfastes dépend de la durée d'exposition. Des descripteurs fonctionnels (inhibition de la photosynthèse, activation d'enzymes antioxydantes, etc.) sont généralement

mobilisés pour évaluer les effets d'une exposition à court terme. L'exposition à plus long terme des communautés, qui conduit généralement à l'élimination des organismes les plus sensibles au profit des taxons tolérants, s'apprécie préférentiellement sur la base de descripteurs structurels (modification de la composition spécifique, ou de l'architecture tridimensionnelle du biofilm). Si l'exposition aux contaminants est ponctuelle (aiguë), les dommages physiologiques sont susceptibles d'être réversibles quand le stress toxique disparaît. En cas d'exposition chronique au contraire, les biofilms peuvent endurer des atteintes à long terme à travers la sélection d'espèces et l'acclimatation des organismes qui contribuent à la tolérance globale qu'acquiert une communauté soumise à la pression toxique. Le principe du PICT (Pollution-Induced Community Tolerance : Blanck *et al.,* 1988) postule ainsi qu'une communauté pré-exposée à un contaminant subit des évolutions (adaptation physiologique et/ou modification de composition) lui conférant une tolérance à cette contamination supérieure à celle d'une communauté ne l'ayant jamais vécue. Cette tolérance acquise peut être déterminée à partir de tests dose/réponse basés sur des paramètres physiologiques simples (descripteurs fonctionnels) fréquemment couplés à une analyse taxonomique. C'est pourquoi aujourd'hui les biofilms sont de plus en plus utilisés pour des études en écotoxicologie, afin de déterminer les effets néfastes des contaminants dans les milieux aquatiques mais aussi sur leurs fonctions écosystémiques.

Rôle des biofilms dans les transferts des pesticides organiques

La bioaccumulation : définition

La bioaccumulation est la capacité d'un organisme à intégrer un élément extérieur (MacKay et Fraser, 2000). Une fois absorbé, cet élément est alors concentré à l'intérieur de l'organisme en question. La bioaccumulation peut se faire *via* plusieurs voies d'entrée comme le milieu environnant (voie de contamination directe) ou la nourriture (voie trophique) (figure 5.4, A).

L'ingestion de cet organisme par un consommateur (principe de la chaîne alimentaire) expose le consommateur au contaminant, qu'il peut accumuler (stocker), concentrer (augmenter la dose par bioamplification), métaboliser ou excréter.

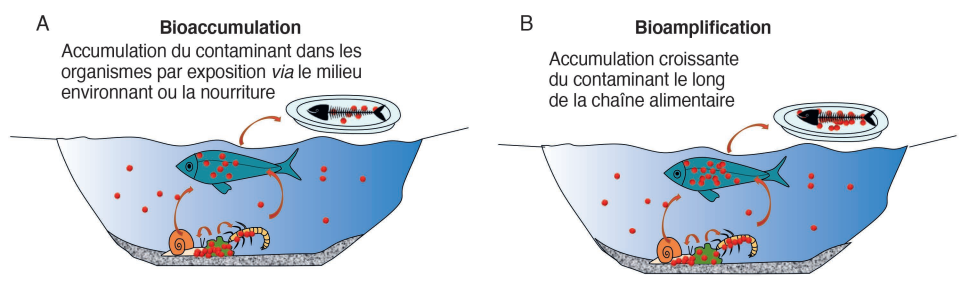


Figure 5.4. Schéma conceptuel du principe de A) bioaccumulation et de B) bioamplification des contaminants (figurés par les points rouges).

Les organismes aquatiques tels que les biofilms sont capables d'accumuler une certaine quantité de contaminants organiques et inorganiques (Bonnineau *et al.*, 2020). Cette capacité est très variable d'un organisme à l'autre et d'un contaminant à l'autre. Les biofilms montrant une composition très hétérogène, certains contaminants sont susceptibles de présenter un risque plus ou moins élevé d'accumulation selon leurs propriétés physico-chimiques. Le risque de transfert trophique dépend également de la localisation des contaminants accumulés, dans la matrice comme dans les organismes, en fonction des composantes assimilées par leurs consommateurs.

Transfert des pesticides et effets potentiels le long de la chaîne trophique

La capacité des biofilms à bioaccumuler divers types de pesticides organiques (Fernandes *et al.,* 2020) et leur place à la base de la chaîne trophique posent un risque de transfert, voire de bioamplification, des contaminants le long de l'édifice trophique (figure 5.4, B). La distribution des contaminants dans la matrice et dans les organismes (voie intracellulaire) peut en effet jouer un rôle dans l'exposition par voie trophique des maillons biologiques supérieurs, et donc augmenter le risque de propagation vers les organismes supérieurs. En effet, le transfert trophique des contaminants dépend de leurs propriétés physico-chimiques, de leur localisation dans les organismes consommés, mais également des capacités d'assimilation (digestives) et de détoxification (excrétion, métabolisation) des consommateurs (Coat *et al.*, 2011). Par exemple, les travaux de Neury-Ormanni *et al.* (2020) ont mis en avant le changement de comportement alimentaire des chironomes (consommateurs primaires) face à des microalgues contaminées. En effet, Demailly *et al.* (2019) ont établi qu'après une exposition aux pesticides, les diatomées perdaient de leur valeur nutritionnelle suite à la modification de leurs profils d'acides gras (notamment une diminution en acides gras essentiels oméga 3) qui représentent une source nutritive pour les niveaux trophiques supérieurs. À terme, une perturbation au niveau du premier maillon de la chaîne trophique tel que les biofilms peut engendrer un bouleversement de l'écosystème (Neury-Ormanni *et al.,* 2016).

Les mécanismes de bioaccumulation

Pour être bioaccumulé par un organisme, un contaminant doit être biodisponible pour ce dernier, à savoir sous forme dissoute (EN ISO 17402). En effet, un contaminant fixé aux particules en suspension aura plus de difficultés à traverser les membranes biologiques et à être absorbé. Cette répartition d'un contaminant entre la phase dissoute et particulaire dépend de ses propriétés physico-chimiques et de celles du milieu. Plus précisément, il s'agit de la capacité qu'a un contaminant à se lier à la matière particulaire du milieu selon son hydrophobicité et son affinité avec la matière organique. Par exemple, un pesticide très hydrophobe a plus de chance d'être retrouvé lié à la matière organique particulaire qu'un pesticide hydrophile (figure 5.5).

Ainsi les contaminants montrant une plus grande affinité avec l'eau (hydrophiles) présentent une plus grande biodisponibilité pour les biofilms. Ils ont une plus

grande facilité à pénétrer dans la matrice extracellulaire du biofilm mais ne sont pas nécessairement bioaccumulés par les micro-organismes, car du fait de leurs propriétés, ils ont plus de difficulté à passer les membranes biologiques. Cependant, ces molécules étant plus facilement assimilables dans la matrice EPS, elles sont également plus susceptibles d'être biodégradées par les micro-organismes composants le biofilm, et aussi d'être expulsées de la matrice EPS.

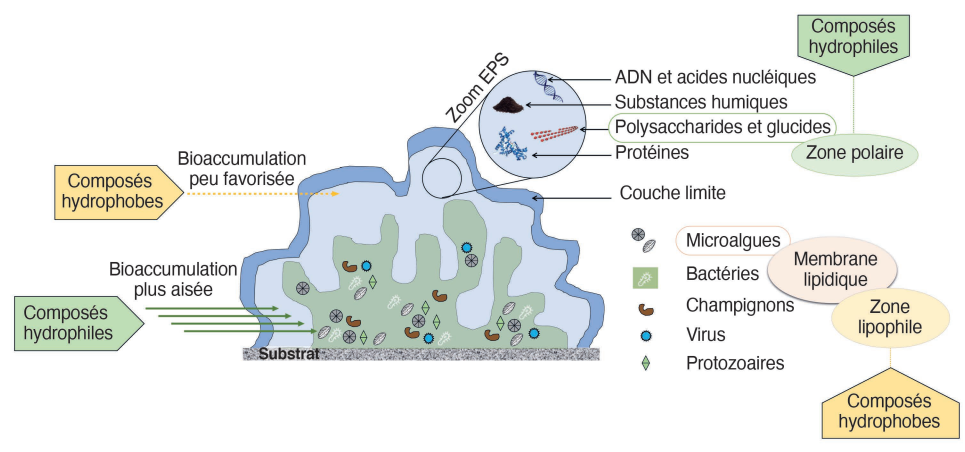


Figure 5.5. Schéma représentant les différentes zones d'interaction entre le biofilm et les contaminants organiques.

Les molécules hydrophobes sont quant à elles moins biodisponibles pour les biofilms dans la mesure où elles rencontrent plus de difficultés à atteindre et pénétrer la matrice EPS. En revanche, une fois dans la matrice, elles présentent un plus grand risque car leur affinité avec les zones lipophiles (telles que les membranes lipidiques des microalgues, figure 5.5) leur permet de s'absorber plus aisément. De même, les pesticides peuvent s'accumuler dans différents compartiments de l'environnement, tout particulièrement dans les sédiments où ils peuvent être stockés à plus ou moins long terme. Une fois stockés, les pesticides peuvent être relargués dans l'eau après un certain temps. De cette façon, les sédiments présentent une source de contamination, d'autant plus que les biofilms benthiques sont en contact permanent avec ce compartiment potentiellement contaminé. En raison de leur grande affinité avec les sédiments (tout comme avec les particules en suspension), les molécules hydrophobes ont une plus grande facilité à s'accumuler dans ce compartiment et représentent donc un risque plus important encore pour les biofilms.

Bien que les molécules hydrophiles soient plus biodisponibles en raison de leurs propriétés physico-chimiques, la bioaccumulation dépend également de l'organisme concerné. La structure et la composition complexe des biofilms les rendent particulièrement sujets à la bioaccumulation des pesticides. Pour commencer, une première régulation de l'entrée des contaminants dans les biofilms se fait au niveau de la couche limite entre la colonne d'eau et la matrice EPS. Celle-ci, par sa composition et ses propriétés proches des deux compartiments, permet de

freiner les intrants ou *a minima* de stocker une partie de ces contaminants là où ils ne peuvent pas encore atteindre les micro-organismes (Chaumet *et al.,* 2019a). Ensuite, certaines parties des biofilms présentent des zones plutôt polaires notamment dues à la présence de polysaccharides et glucides montrant une grande affinité avec les composés hydrophiles (Flemming, 1995), mais ils présentent également des zones plus apolaires, dites lipophiles, qui ont une plus grande affinité pour les molécules hydrophobes. Ces zones sont localisées au niveau des membranes lipidiques des microalgues. Ceci signifie qu'une molécule hydrophobe peut rencontrer plus de difficulté à entrer dans la matrice EPS, en d'autres termes à passer cette barrière aux propriétés physico-chimiques différentes. Cependant, une fois dans cette matrice, une telle molécule peut se lier plus aisément aux membranes lipidiques et ainsi être internalisée par la cellule, sur laquelle elle peut exercer un impact toxique.

Techniques d'évaluation de la qualité des cours d'eau avec les biofilms

Méthodes de quantification des pesticides organiques dans les biofilms

À l'heure actuelle, il existe plusieurs méthodes d'extraction et d'analyse des contaminants organiques dans les biofilms, selon la finalité de l'étude. Cependant, pendant de nombreuses années, la quantification des contaminants organiques dans les EPS et les micro-organismes des biofilms a représenté un réel challenge technique. En effet, toute la difficulté résidait dans 1) l'établissement d'une technique permettant d'éviter les effets de matrice pour la quantification des pesticides dans le biofilm total, 2) l'extraction à proprement parler des EPS de la matrice biofilm pour l'étude de ces deux fractions séparément et 3) les effets de compétition relatifs à la méthode d'extraction des EPS et des contaminants organiques.

Les premières approches pour quantifier les contaminants organiques dans les biofilms totaux (c'est-à-dire en l'absence de distinction entre la matrice EPS et le contenu intracellulaire des organismes vivants) ont été réalisées dans les années 1990 *via* l'usage de chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse (Headley *et al.,* 1998), puis se sont largement diversifiées ces dernières années (Huerta *et al.,* 2015 ; Desiante *et al.,* 2021).

Pour aller plus loin dans la compréhension de la composition du biofilm, des études ont entrepris de séparer les différentes fractions de celui-ci, à savoir d'un côté les micro-organismes et de l'autre les EPS. Par exemple, Aguilera *et al.* (2008) ont pu établir que les EPS représentaient 90 % du biofilm total et ainsi déterminer leur composition (carbohydrates, protéines, etc.) grâce au test de cinq méthodes d'extraction différentes. Ils ont également pu distinguer deux sortes d'EPS, les EPS fortement liées aux micro-organismes (fraction colloïdale) et les EPS diffuses qui, elles, peuvent être extraites plus aisément. Par la suite, d'autres études ont réutilisé et adapté ces méthodes de préparation et d'analyse et ont mis en avant le manque de connaissances pour à la fois extraire les EPS et quantifier les contaminants organiques dans cette matrice (Romaní *et al.*, 2008). En effet, sur la question de la contamination internalisée, la littérature est plus fournie en

ce qui concerne la contamination métallique qu'organique (Morin *et al.,* 2008 ; Bonnineau *et al.,* 2020). Cela s'explique par le fait que la contamination métallique dans les cours d'eau a été étudiée plusieurs années avant que les pesticides organiques ne soient considérés comme des contaminants émergents. Aussi, les études concernant la contamination métallique ont pu être plus approfondies en raison des techniques d'extraction des métaux de la matrice bien plus simples à mettre en place (par exemple, le rinçage à l'EDTA). Ainsi, parmi les méthodes d'extraction des EPS du biofilm, peu (voire aucune) sont compatibles avec la quantification des contaminants organiques ci-après. En effet, jusqu'alors, ces méthodes présentent des risques d'effets de compétition. C'est le cas notamment des résines échangeuses de cations qui permettent de très bons taux d'extraction d'EPS mais qui sont également capables de fortement retenir les contaminants organiques, et d'ainsi les extraire de la matrice EPS. C'est ainsi que des études plus récentes se sont attelées à développer de nouvelles méthodes d'extraction basées sur une approche d'extraction physique, par exemple obtenues par extraction aux ultrasons, puis centrifugation (Artigas *et al.*, 2017 ; Chaumet, 2018).

Les biofilms, des « échantillonneurs intégratifs » des pesticides dans les eaux

De par leur présence ubiquiste et leur capacité à bioaccumuler un large spectre de contaminants organiques (Huerta *et al.,* 2015 ; Fernandes *et al.*, 2020), les biofilms se placent comme d'excellents échantillonneurs passifs. De nombreuses études ont démontré leur capacité à bioaccumuler les pesticides (tableau 5.2). Ces doses accumulées vont de concentrations très faibles (proches de zéro) à 746 à 1 849 $\mu g \cdot g^{-1}$ de poids sec pour le DDT et le diuron respectivement. Les grandes disparités des valeurs de BCF (facteur de bioconcentration) indiquent que les biofilms accumulent plus ou moins les molécules selon leurs propriétés. Aussi les échantillonneurs passifs ont-ils pour rôle de rendre compte de la contamination du milieu sur de longues durées (14 jours, un mois…), permettant ainsi d'intégrer cette contamination pour une vue d'ensemble peut-être moins précise mais plus juste.

D'ailleurs, une étude menée par Camotti Bastos *et al.* (2018) a comparé l'efficacité d'intégration des biofilms et des POCIS (Polar Organic Chemical Integrative Samplers) qui font partie des dispositifs d'échantillonnage passif les plus couramment utilisés pour la détection des pesticides organiques modérément polaires. Cette étude a démontré que ces deux approches étaient complémentaires et capables d'identifier les contaminations organiques dans les cours d'eau en zone agricole.

En effet, les deux fonctionnent selon le même principe d'accumulation dans le temps suivant une cinétique d'ordre 1. Celle-ci se découpe en deux phases, avec une première phase d'accumulation (déterminée par la constante d'accumulation k_u) suivie par une phase d'équilibre qui se caractérise par l'atteinte d'un plateau d'accumulation maximum (figure 5.6). Bien que les temps d'accumulation puissent varier entre les biofilms et les POCIS, ils présentent les mêmes cinétiques d'accumulation, ce qui permet de comparer ces deux outils (« biologiques » et « chimiques »).

Tableau 5.2. Études portant sur la bioaccumulation des pesticides organiques dans les biofilms, tableau adapté de Bonnineau *et al.* (2020).

Pesticides analysés (log K_{OW})	Design expérimental	Type de biofilm	Concentration en pesticides dans l'eau ($\mu g \cdot L^{-1}$)	Concentration en pesticides dans le biofilm ($\mu g \cdot g^{-1}$ poids sec)	BCF* ($g \cdot L^{-1}$)	Sources
Chlordécone (4,5-6)	*In situ*	Périphytique	ND**	0,348-0,98	ND	Coat *et al.*, 2011
		Planctonique		1,25-4,733		
		Benthique		0,091-0,401		
Monohydro-chlordécone (ND)		Périphytique		0,009-0,0125		
		Planctonique		0-0,037		
		Benthique		0		
Tébuconazole (3,7)	Microcosmes	Périphytique	238	64	0,27	Dimitrov *et al.*, 2014
		Benthique	238	64	0,27	
DDT (6,91)	*In situ*	Périphytique	0,00135	25,11	18600	Kohusova *et al.*, 2011
			0,0008	18,48	23100	
			0,00108	34,21	31676	
			0,0095	746,22	78549	
Aldrin (6,95)	*In situ*	Benthique	ND**	0	ND	Weston *et al.*, 2004
Alpha + bêta-endosulfan, endosulfan sulfate (ND)				0,571		
Alpha, beta, delta, gamma-bhc (ND)				0,0114		
Bifenthrine (6)				0,0288		
Chlorpyrifos (4,96)				0		
Dieldrine (5,8)				0		
Endrine (5,27)				0		
Endrine aldéhyde (4,8)				0		
Endrine cétone (ND)				0		
Lambda-cyhalothrine (7)				0,0168		
Méthoxychlore (5,8)				0		
P,p'-dde + p,p'-ddd + p,p'-ddt (ND)				0,384		
Diuron (2,68)	Microcosmes	Périphytique	1,01	380	376	Chaumet *et al.*, 2019b
			3,72	1518	408	
			6,57	1307	199	
			23,31	1849	79	

* BCF (facteur de bioconcentration) : concentration dans le biofilm / concentration dans l'eau.
** ND : non disponible.

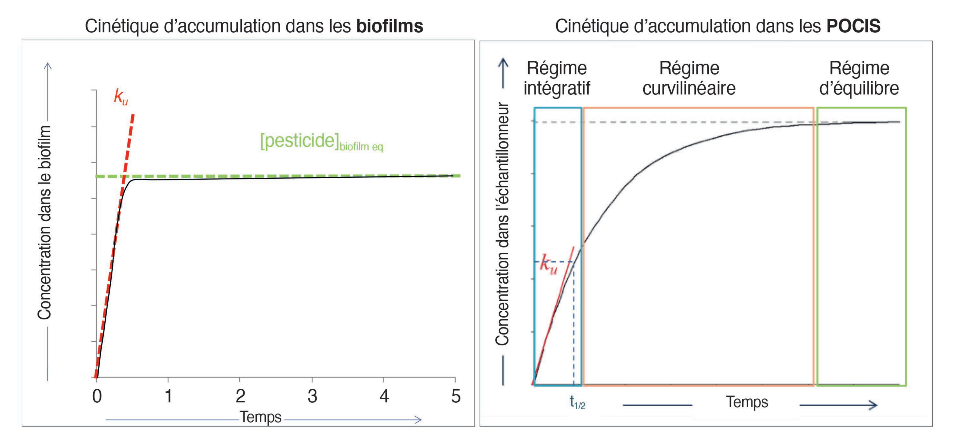


Figure 5.6. Représentation schématique de la cinétique d'accumulation des pesticides dans les biofilms (à gauche) et dans les POCIS (à droite), avec k_u la constante d'accumulation.

Les biofilms offrent aussi de nombreux avantages, notamment le fait qu'ils sont présents dans les cours d'eau tout au long de l'année. Ainsi, grâce à leur exposition continue aux conditions prévalant dans les eaux, ils peuvent renseigner sur le niveau moyen de contamination pendant et hors périodes d'épandage (Rheinheimer dos Santos *et al.,* 2020). De même, leur composition hétérogène apporte de nombreux sites de sorption pour une large gamme de contaminants (Flemming, 1995 ; Flemming et Wingender, 2010 ; Creusot *et al.,* 2020). De cette façon, les biofilms peuvent également bioaccumuler des concentrations très élevées de contaminants divers (Bonnineau *et al.*, 2020) et reflètent alors la qualité des cours d'eau intégrée dans le temps.

Impact des pesticides sur les biofilms en lien avec leur contexte environnemental

Relation entre la bioaccumulation des pesticides organiques dans les biofilms et leur effet toxique

Lorsque les pesticides sont bioaccumulés par les biofilms, ils peuvent suivre plusieurs voies, à savoir : être internalisés par les cellules, être éliminés et rejetés dans le milieu extérieur, être biodégradés par les micro-organismes périphytiques (notamment les bactéries ; Tien *et al.*, 2013) ou tout simplement être stockés dans la matrice. Le processus de bioaccumulation peut être très rapide (en quelques minutes) et faire atteindre de fortes concentrations dans les organismes (Chaumet *et al.*, 2019a ; Zhang *et al.,* 2018 ; Huerta *et al.,* 2015). Ainsi ils représentent un risque à différents niveaux pour la santé des biofilms. En effet, une fois bioaccumulés, les pesticides peuvent causer diverses manifestations toxiques sur les différents organismes composant les biofilms, et notamment engendrer des effets délétères en étant internalisés par la cellule (Creusot *et al.*, 2022).

Selon leur mode d'action, les pesticides peuvent cibler des groupes taxonomiques différents et induire une toxicité variable selon les organismes, ce qui constitue les effets directs. Par exemple, les herbicides créés pour lutter contre les adventices,

tout particulièrement ceux qui ont comme mode de fonctionnement l'inhibition de la photosynthèse, représentent un risque majeur pour les microalgues du biofilm. Il en va de même pour les fongicides ciblant la respiration, qui, quant à eux, peuvent atteindre les champignons contenus dans les biofilms. Aussi, des recherches ont mis en avant les effets en cascade de ces contaminants, à savoir les effets dits indirects. Ces effets surviennent lorsqu'un type d'organisme est lésé à l'intérieur de la matrice, ce qui par la suite perturbe l'équilibre tout entier du biofilm (Coat *et al.*, 2011 ; Neury-Ormanni *et al.*, 2016). À terme, ceci peut engendrer un dysfonctionnement de l'écosystème entier.

Il a également été démontré que les pesticides n'avaient pas nécessairement un effet toxique linéairement corrélé à la dose d'exposition, ce qui a permis de modéliser les courbes doses-réponses sous la forme d'un sigmoïde (figure 5.7) (Morin *et al.*, 2018 ; Chaumet *et al.*, 2019b). À partir de cette hypothèse, il a été possible d'établir un modèle prédictif dénommé modèle E_{max}. Ce modèle prend en compte la relation non linéaire entre la concentration en contaminants dans le milieu et l'effet observé (Derendorf et Meibohm, 1999), par le biais de la bioaccumulation et des isothermes d'adsorption associés.

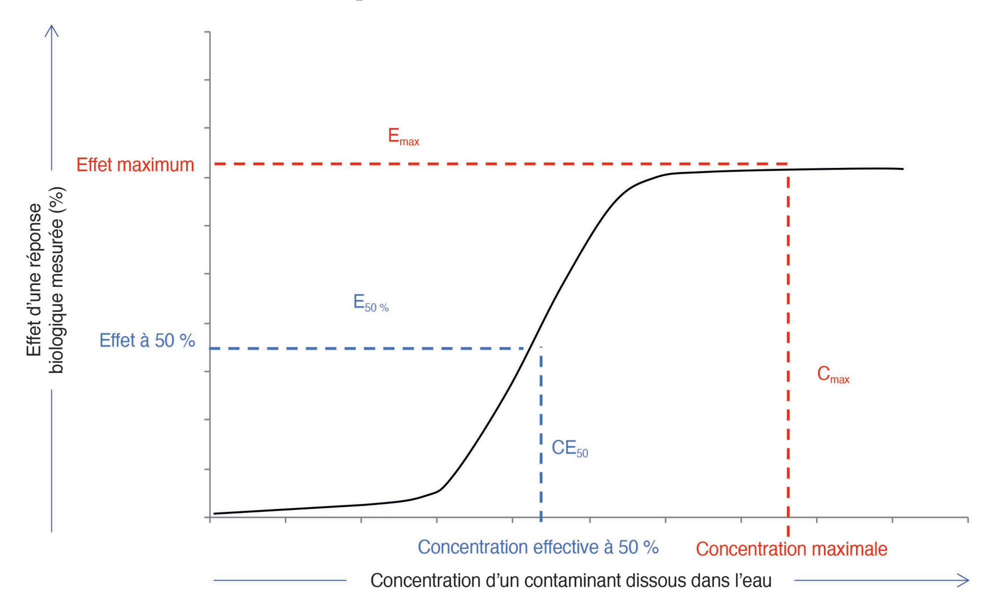


Figure 5.7. Représentation d'une courbe dose-réponse.

Influence des facteurs environnementaux sur la bioaccumulation

De nombreux facteurs environnementaux peuvent moduler le processus de bioaccumulation des contaminants dans les biofilms ainsi que leurs effets toxiques : les facteurs saisonniers et la vitesse du courant notamment.

L'effet saisonnier est marqué par deux facteurs principaux que sont la température de l'eau et la lumière (luminosité, photopériode…). Selon la période de l'année, la composition des biofilms change, au gré des préférences écologiques des groupes taxonomiques. Par exemple, en période printanière et estivale, lorsque les conditions sont optimales pour la croissance de la composante végétale du biofilm, les algues vertes sont les espèces majoritaires du biofilm (Villeneuve *et al.*, 2011), alors que les diatomées sont les espèces qui colonisent principalement les biofilms au mois les plus froids et les plus sombres. En automne, la proportion de micro-organismes hétérotrophes (bactéries et champignons) augmente avec l'activité importante de décomposition des feuilles mortes. Parmi ces différentes espèces, certaines ont une plus grande sensibilité face à la contamination chimique du milieu. Aussi, il a été montré que les conditions relatives aux différentes saisons (température et photopériode) pouvaient moduler la tolérance des biofilms face aux pesticides (Chaumet *et al.*, 2020).

De même, la formation et la composition des biofilms sont soumises aux conditions inhérentes au milieu dans lequel ils se trouvent (Mora-Gómez *et al.*, 2016), et tout particulièrement aux conditions hydrologiques. En effet, la vitesse du courant joue un rôle prépondérant sur leur forme et sur les espèces qui les constituent. Par exemple, seules les espèces suffisamment adhérentes peuvent subsister dans des zones où le courant est très fort. Un fort courant peut également entraîner la diminution de la couche limite (interface entre le biofilm et l'eau courante), voire emporter une partie de la matrice EPS qui confère sa stabilité au biofilm. Ces paramètres ont une influence sur la composition et/ou la forme tridimensionnelle du biofilm, ce qui peut significativement affecter sa capacité à bioaccumuler les contaminants.

Interactions entre molécules dans le milieu aquatique

En parallèle des divers facteurs environnementaux, d'autres paramètres abiotiques peuvent avoir une influence sur la bioaccumulation des pesticides dans les biofilms tels que la présence en mélange des molécules elles-mêmes. En effet, dans les milieux aquatiques, les molécules n'apparaissent jamais seules et sont toujours en mélanges. Depuis plusieurs décennies, quelques études ont commencé à étudier les effets des molécules en mélanges sur la base de modèles tels que l'addition des concentrations ou les actions indépendantes, mettant ainsi en évidence des effets antagonistes ou synergiques (cf. chapitre 6). Aussi, Cedergreen *et al.*, (2017) ont montré que certaines molécules présentes ensemble dans le milieu pouvaient influencer la capacité de l'une ou plusieurs d'entre elles à être biotransformées par les organismes aquatiques. En termes d'accumulation, des phénomènes de compétition des substances pour l'entrée dans les organismes peuvent avoir lieu (El Azzi *et al.,* 2018). Cependant, les connaissances sur le comportement des mélanges de micropolluants dans l'environnement aquatique (bioaccumulation, effet toxique) sont clairement limitées, tout particulièrement concernant leur devenir dans les organismes aquatiques à l'échelle de la communauté.

Des outils exploitables dans le cadre de la phytopharmacovigilance ?

Une fois appliqués dans les champs, les produits phytopharmaceutiques et leurs résidus peuvent provoquer des effets sur la santé et l'environnement. L'Anses anime un dispositif national de phytopharmacovigilance pour les surveiller. Ce dispositif unique en Europe permet de disposer de nombreuses données sur la présence de résidus de produits phytopharmaceutiques dans les milieux, y compris les aliments, les expositions et leurs éventuels effets sur les êtres vivants et les écosystèmes. Toutes ces informations servent à alerter sur des expositions à risques et à la mise en œuvre de mesures pour y remédier. La phytopharmacovigilance a remplacé l'Observatoire des résidus de pesticides (ORP). L'Anses a mis en place ce dispositif dans le cadre de la loi d'avenir pour l'agriculture, l'alimentation et la forêt du 13 octobre 2014. Il s'inscrit dans l'objectif du plan Écophyto et propose d'évaluer, de maîtriser et de réduire les risques et les impacts des produits phytopharmaceutiques sur la santé humaine et sur l'environnement. Conçue pour renforcer la protection des santés humaine, animale ou végétale contre des produits biologiquement actifs, la phytopharmacovigilance est le complément indispensable des autres missions menées par l'Anses, notamment l'évaluation de l'efficacité des produits phytopharmaceutiques et des risques liés à leur utilisation, qui donne lieu à la délivrance ou au refus d'autorisation de mise sur le marché.

L'objectif du dispositif est d'identifier au plus tôt d'éventuels effets indésirables liés à l'utilisation de ces produits et ainsi de protéger la santé des êtres vivants et des écosystèmes. Ce dispositif mis en place en 2015 est unique en Europe : il prend en compte l'ensemble des effets indésirables, qu'ils concernent la santé humaine, animale, végétale, l'alimentation ou l'environnement. Il fait partie des signaux qui peuvent amener à prendre des mesures de prévention ou de limitation des risques.

Les données collectées ou produites dans le cadre de ce dispositif permettent :

- d'adapter si nécessaire les conditions d'autorisation de mise sur le marché des produits aujourd'hui commercialisés, par exemple de conduire, si besoin, à une réduction des doses, à une adaptation des conditions d'application ou au retrait d'une autorisation de mise sur le marché ;
- d'engager des mesures de gestion pour réduire les expositions à risque, par exemple pour la protection des personnes à proximité des zones traitées ;
- de contribuer à faire évoluer, si nécessaire, les méthodes d'évaluation des risques avant mise sur le marché, utilisées au niveau européen.

Le dispositif de phytopharmacovigilance permet de collecter et d'examiner de façon continue des informations produites par plusieurs réseaux et organismes de surveillance ou de vigilance partenaires, qui renseignent entre autres la contamination des milieux : l'eau (données de la surveillance DCE, produites par les Agences de l'eau et disponibles dans la base de données Naïades [OFB]) et le sol (première campagne prospective en cours de finalisation, pilote RMSQ [INRAE] et analyses effectuées par l'Université de Bordeaux). Ces informations sont réunies et rendues publiques sous la forme de fiches par substance active. Par ailleurs, le dispositif de phytopharmacovigilance prend en compte des données et études au niveau international, en particulier quand des données complémentaires sont disponibles.

À ce jour, les données de surveillance des eaux de surface et des sols utilisées par la phytopharmacovigilance sont produites selon des méthodes d'échantillonnage classiques, avec des prélèvements ponctuels à un instant T. L'utilisation des biofilms périphytiques pourrait conduire à une surveillance plus précise et intégratrice, voire représenter un indicateur supplémentaire. De même, les biofilms sont des outils fréquemment utilisés en écotoxicologie pour déterminer les effets toxiques des contaminants sur les milieux aquatiques, ce qui explique tout l'intérêt de ce chapitre et des recherches auxquelles

nous sommes très attentifs. Il serait d'ailleurs intéressant d'étudier leur potentiel pour déterminer les effets des métabolites des pesticides, pour lequel nous ne disposons encore que de trop peu d'informations. De plus, l'analyse des biofilms pourrait peut-être aider à la compréhension de la problématique des effets mélanges, pas encore suffisamment maîtrisés à ce jour. En conclusion, si ces outils venaient à être validés et utilisés à plus larges échelles par nos partenaires de la surveillance des milieux (OFB, INRAE) à l'avenir, la phytopharmacovigilance pourrait en tirer profit pour mieux caractériser les effets indésirables des produits phytopharmaceutiques.

Témoignage de Fabrizio Botta, expert et responsable de la phytopharmacovigilance à l'Anses.

Étude de cas

Sites d'étude et stratégie d'échantillonnage



Figure 5.8. A) Localisation géographique des différents points de prélèvements sur la commune de Marcillac (entourés en rouge). Photographie de B) la Livenne, C) d'une lame recouverte de biofilm et D) d'une cage contenant ces lames colonisées après un mois d'immersion.

L'objectif de cette étude de cas était de quantifier la bioaccumulation des pesticides dans les biofilms en conditions climatiques et hydrologiques différentes.

Dans cette étude, des campagnes de collecte d'échantillons ont été réalisées sur la commune de Marcillac, sur le bassin-versant expérimental du Blayais (Gironde, Nouvelle-Aquitaine) qui s'étend sur une superficie de 8,5 km². Cette zone subit une forte pression anthropique liée à la viticulture (cf. chapitre 1).

Cinq sites de prélèvement ont été choisis sur deux cours d'eau, les Souches (SE) et la Livenne (L1 à L4). Les sites d'étude ont été sélectionnés de manière à représenter un gradient de contamination potentiel de l'amont (site L1) à l'aval (site L4), avec le site SE qui se trouve dans le ruisseau des Souches, juste avant sa confluence avec la Livenne, entre les sites L2 et L3 (figure 5.8).

Stratégie d'échantillonnage

Afin d'évaluer l'influence de la saisonnalité sur la bioaccumulation des pesticides dans les biofilms, plusieurs campagnes de terrain ont été mises en place au cours de l'année 2017, à diverses périodes de l'année. La première a été réalisée du 20 février au 20 mars, la seconde du 23 mai au 22 juin, la troisième du 28 juillet au 29 août et la dernière du 20 novembre au 19 décembre. Ces dates permettent de couvrir des périodes à la fois exemptes *a priori* de contamination par les produits phytosanitaires et des périodes d'épandage, toutes avec des fonctionnements hydrologiques différents.

Des lames de verre ont été encagées puis placées dans l'eau sous la surface à l'aide de flotteurs dans le passage de la lame d'eau. Ces cagettes sont restées immergées durant 4 semaines pour permettre au biofilm de coloniser la surface des lames et de devenir mature. Pour chaque campagne de terrain et pour chaque site, des réplicas ont été préparés pour une plus grande robustesse des résultats. Cependant, en période automnale et hivernale, certains de ces réplicas ont dû être regroupés en un seul échantillon en raison de la trop faible quantité de biofilm colonisé sur les lames, ce qui a permis d'obtenir assez de matériel pour l'analyse.

Mesures in situ *et collecte d'échantillons*

Au cours de ces 4 semaines d'exposition, des mesures *in situ* des paramètres physico-chimiques ont été réalisées une fois par semaine pour permettre le suivi de la qualité de l'eau. Pour ce faire, le pH, la conductivité, l'oxygène dissous et la température ont été relevés à l'aide d'une sonde multi-paramètres (WWT). À chaque passage sur les sites, les cagettes ont également été nettoyées et désensablées si nécessaire.

À la suite de l'exposition, les cagettes ont été retirées de l'eau et les lames contenant le biofilm récupérées. Ce dernier a été gratté à l'aide d'une lame de rasoir et placé dans des flacons de 250 mL en polyéthylène pour le transport, puis les lames ont été rincées avec de l'eau distillée. Enfin, les échantillons ont été transportés au laboratoire, pour préparation et analyse, dans des glacières destinées à maintenir une température basse.

Analyses en laboratoire

Les échantillons ont été filtrés en laboratoire le même jour que les prélèvements *in situ*. Pour ce faire, un système de filtration Büchner a été utilisé contenant un filtre en fibre de verre GF/F (diamètre : 90 mm, taille de pores : 0,7 µm, Whatman®) préalablement séché à l'étuve et pesé. Les filtres contenant le biofilm ont été placés à -20 °C pendant au moins 12 heures, puis le biofilm a été lyophilisé (grâce à des lyophilisateurs de laboratoire de type Alpha 1-2 Dplus Christ, fabriqués en Allemagne) durant 4 heures. Une fois sec, le filtre contenant le biofilm a de nouveau été pesé pour permettre de calculer la masse sèche du biofilm seul, par soustraction de la masse du filtre seul.

Les pesticides ont ensuite été extraits du biofilm lyophilisé par Accelerated Solvent Extraction (ASE 2000, Dionex). Cette technique consiste à placer les échantillons sous très haute pression et température pour casser les parois cellulaires et à les mettre en contact avec un solvant présentant une plus grande affinité pour les pesticides que la matrice dans laquelle ils se trouvent, afin que ces derniers puissent être emportés et complètement séparés de cette matrice. Une fois les pesticides dans le solvant, celui-ci a été évaporé sous azote. Puis les pesticides ont été remis en suspension dans de l'eau ultrapure.

Une étape de purification des échantillons a été réalisée afin d'éviter toute interférence avec d'éventuels résidus de la matrice. Cette purification a été faite par extraction en phase solide (SPE). Les pesticides ont été séparés et quantifiés par le couplage HPLC-MS/MS (High Pressure Liquid Chromatography, Dionex Ultimate 3000, Thermo Fisher Scientific ; API 2000, Sciex).

Résultats de l'étude de terrain

Bioaccumulation des pesticides par saison

Ces 4 campagnes de terrain réalisées sur des saisons distinctes ont mis en avant la disparité des pesticides par rapport à leur présence dans les biofilms selon la période considérée.

En effet, lors de la **première campagne** réalisée du 20 février au 20 mars, aucun pesticide n'a été retrouvé sur les sites L1, L2 et L3. Sur le site SE, deux fongicides ont été quantifiés à hauteur de 1,9 et 3,1 $\mu g \cdot g^{-1}$ pour la spiroxamine et l'époxiconazole respectivement. Sur le site SE, seul le linuron, un herbicide, a été retrouvé à une concentration de 7,2 $\mu g \cdot g^{-1}$.

La **seconde campagne** effectuée du 23 mai au 22 juin a, quant à elle, présenté des concentrations élevées en pesticides et ce sur chaque site échantillonné. Dans un premier temps, il est notable que toutes les familles de pesticides ciblées (herbicides, fongicides et insecticides) ont été retrouvées sur l'ensemble des sites avec malgré tout des disparités entre ces familles. Ainsi, la famille des herbicides est la plus présente avec des proportions allant de 62 % (site L4) à 82 % (site L1) (figure 5.9). 4 métabolites ont été quantifiés dont l'IPPMU, métabolite de l'isoproturon. Ce métabolite a été retrouvé à de fortes concentrations allant de 10 $\mu g \cdot g^{-1}$ pour le

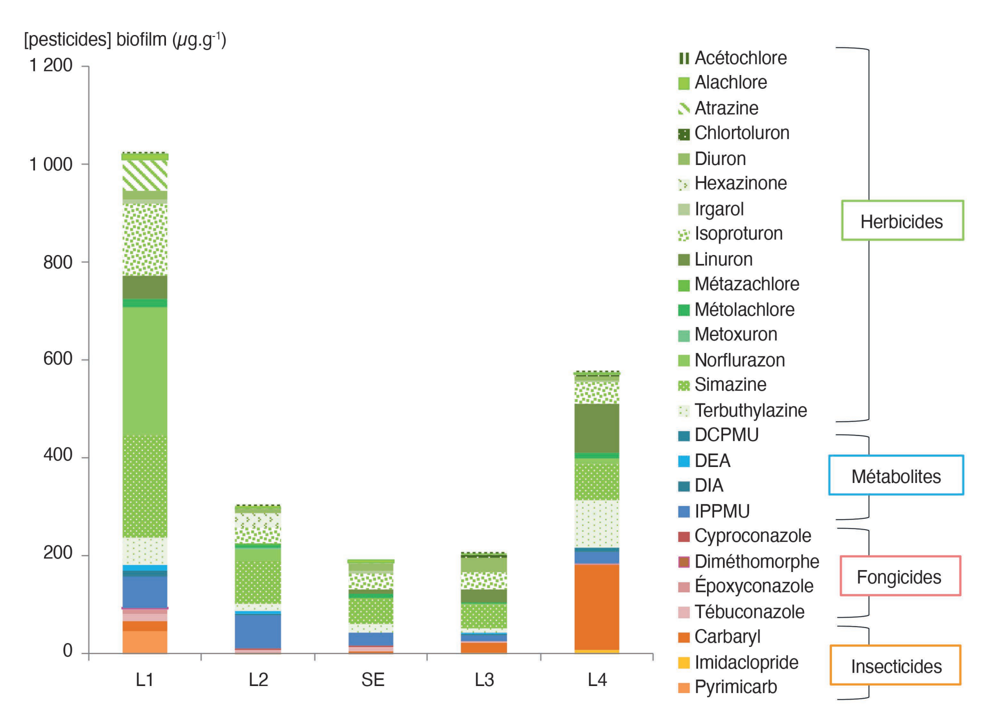


Figure 5.9. Concentrations en pesticides dans les biofilms en $\mu g \cdot g^{-1}$ pour la campagne d'exposition du 23 mai au 22 juin 2017.

site L3, le moins contaminé, à 64 et 69 $\mu g \cdot g^{-1}$ pour les sites L1 et L2 respectivement. En parallèle, sa molécule mère a également été présente à de très fortes doses de 31 à 149 $\mu g \cdot g^{-1}$.

Pour l'ensemble des sites, il peut être noté que la présence des trois autres métabolites concorde également avec la présence de leur molécule mère. De même que l'isoproturon, certaines molécules ont présenté des concentrations particulièrement élevées sur le site L1 ; c'est notamment le cas pour la simazine (207 $\mu g \cdot g^{-1}$) et le norflurazon (264 $\mu g \cdot g^{-1}$), toutes deux des herbicides. Pour les insecticides, leur forte présence plus en aval du cours d'eau a été notable, avec par exemple la présence de carbaryl à hauteur de 171 $\mu g \cdot g^{-1}$ sur le site L4. Sur cette campagne de collecte printanière, relativement peu de fongicides ont été retrouvés, leur présence ne dépassant pas les 5,5 % (site SE). Étant donné la nature des cultures viticoles aux alentours, de plus grandes proportions de ces molécules auraient pu être attendues. On peut ici supposer que l'usage de pesticides inorganiques a été préféré, par exemple celui de la bouillie bordelaise épandue pour lutter contre le mildiou.

Au cours de la **troisième campagne** de collecte d'échantillons réalisée du 28 juillet au 29 août, seuls le métolachlore et l'acétochlore, deux herbicides, ont été retrouvés sur le site S1 à hauteur de 12,6 et 7,9 $\mu g \cdot g^{-1}$ respectivement.

Enfin, au cours de la **quatrième campagne** effectuée en période automnale du 20 novembre au 19 décembre, aucun pesticide n'a été quantifié dans les biofilms sur les sites étudiés, ce qui confirme la faible pression de traitements phytosanitaires à cette période.

Répartition des pesticides le long du gradient amont/aval

Dans cette étude, la seconde campagne de prélèvement (23 mai-22 juin 2017) a été la plus significative vis-à-vis des fréquences de détection.

La majorité des molécules retrouvées à cette période sont des herbicides. Sur 17 herbicides ciblés, 15 ont été détectés sur l'ensemble des sites. Par ailleurs, environ 50 % des fongicides, insecticides et métabolites ciblés ont été quantifiés sur cette même campagne.

Le site L1 est celui qui présente les concentrations les plus élevées, avec par exemple l'isoproturon, la simazine et le norflurazon qui présentent des concentrations supérieures à 100 µg · g^{-1} (figure 5.10). Il s'agit également du site le plus en amont du cours d'eau de la Livenne. Le site L2 est celui qui présente la plus grande diversité de molécules, suivi de près par les sites L3 et L4, les deux points de prélèvement les plus en aval du cours d'eau. Le point de collecte SE qui se situe sur le ruisseau des Souches rejoint la Livenne entre les points L2 et L3 ; il est le site le moins touché de tous en termes de diversité de molécules retrouvées et de concentrations mesurées.

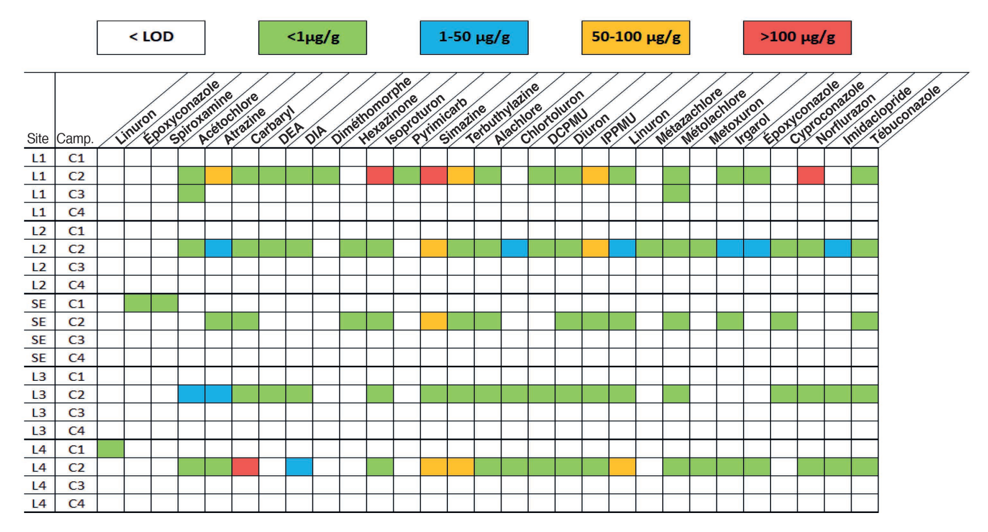


Figure 5.10. Répartition des pesticides entre les sites d'échantillonnage et selon les différentes campagnes de collecte (< LOD : en dessous des limites de quantification).

L'évaluation de la bioaccumulation comme marqueur des usages des pesticides dans le temps

Saisonnalité de la bioaccumulation des pesticides

Au cours de l'année, un grand nombre de molécules ciblées ont été détectées, avec d'importantes variations en termes de concentrations mesurées. Dans cette étude de cas, les résultats ont mis en avant un effet de la saisonnalité très marqué. Ainsi, de façon générale la période d'épandage se trouve comprise entre la fin du mois de mars et le début du mois de juillet, et c'est précisément après cette période que les contaminations les plus élevées ont été retrouvées (23 mai-22 juin), tandis que sur les périodes automnale et hivernale, peu de pesticides, voire aucun, ont été retrouvés dans les biofilms.

Ces résultats semblent en contradiction avec une de nos précédentes études, qui mettait en avant que les biofilms avaient *a priori* un métabolisme ralenti (c'est-à-dire une plus faible production de polysaccharides et de protéines) et accumulaient une plus grande concentration de pesticides en période hivernale (à concentration d'exposition égale) (Chaumet *et al.*, 2020). Dans cette étude sur le site de Marcillac, l'exposition aux pesticides a fluctué au cours de l'année, notamment en fonction des périodes d'épandage. Il est possible que certaines molécules épandues au printemps soient à peine présentes dans les sols et les cours d'eau aux autres saisons, ce qui expliquerait des doses bioaccumulées si faibles qu'elles seraient non détectables. Dans leur ensemble, ces résultats mettent en lumière que de multiples phénomènes, liés à l'intensité de l'exposition ou à d'autres caractéristiques biologiques encore peu décrites, peuvent affecter la bioaccumulation des pesticides par les biofilms.

Ainsi, au-delà de l'utilisation des pesticides, la différence de bioaccumulation d'une saison à une autre pourrait également être liée à la composition taxonomique et structurale (EPS, polysaccharides, protéines) du biofilm, qui peut différer selon la période de l'année et les variations de température et de lumière (Mora-Gómez *et al.*, 2016). Nous avons vu par exemple que le biofilm est généralement davantage colonisé par les algues vertes que les algues brunes au printemps, et ces deux groupes algaux peuvent présenter des capacités de sorption, de métabolisme et de biotransformation différentes. Dans la présente étude, d'une saison à l'autre, les biofilms ne représentaient pas la même masse sèche ; ils n'avaient par conséquent pas la même capacité de stockage (Bottacin-Busolin *et al.*, 2009). Bien que les résultats soient exprimés en masse de pesticides accumulés par masse sèche de biofilm, il est envisageable que l'accumulation des pesticides dans les biofilms ne soit pas proportionnelle à la masse sèche. Afin d'éviter ce biais, les études actuelles rapportent ces concentrations à la superficie collectée. Enfin les variations hydrologiques inhérentes aux différentes périodes de l'année peuvent également contribuer à ces disparités saisonnières. En particulier en période hivernale et automnale, le débit mesuré était plus important qu'aux périodes printanière et estivale où celui-ci était faible, parfois nul. L'effet du courant module la forme et

le volume du biofilm, en particulier l'épaisseur de la couche d'EPS superficielles (Chaumet *et al.*, 2019b), ainsi que sa capacité de désorption (Tien *et al.*, 2013). Aussi, ces résultats peuvent être expliqués par un phénomène de dilution lié aux volumes d'eau plus conséquents sur cette période.

Présence des pesticides en relation avec l'occupation des sols

Les pesticides atteignent les cours d'eau par le biais de plusieurs processus tels le lessivage des sols ou encore le drainage. Par conséquent, la présence de toutes les molécules dans les cours d'eau semble être liée au paysage et à l'occupation des sols (Macary *et al.*, 2014). Ainsi, la zone des sites étudiés se place dans un contexte viticole très marqué, dans lequel fongicides et herbicides sont les principaux produits de protection utilisés.

Plus en amont sur le bassin se trouvent quelques parcelles agricoles qui pourraient contribuer fortement à la présence massive des herbicides principalement sur le site L1.

En amont du point SE se trouve une station d'épuration urbaine (STEP, figure 5.8) ce qui pourrait expliquer une grande partie des molécules retrouvées en lien avec leur utilisation en zone urbaine (le jardinage amateur, par exemple). Les STEP urbaines collectent et traitent les eaux des particuliers, ce qui signifie que toutes sortes de molécules peuvent s'y retrouver. Certaines substances phytosanitaires à usage interdit en agriculture mais à usage domestique autorisé peuvent ainsi rejoindre le milieu aquatique. Il peut par exemple s'agir d'herbicides si ces derniers sont issus de traitements de désherbage domestique ou de l'entretien des façades et toitures (c'est le cas du diuron : Cerema, 2017), ou d'insecticides comme les produits antipuces à usage vétérinaire. Aujourd'hui ces molécules sont assez mal éliminées dans ces stations car il n'existe pas de traitement approprié à chaque type de molécule. Pour cette raison, des pesticides peuvent être retrouvés en aval des rejets d'épuration. Dans cette étude, les concentrations n'augmentent pas radicalement au-delà de la station, ce qui peut indiquer que ses apports sur la seconde campagne sont faibles.

En revanche, entre le point de collecte L3 et L4 se trouve une distillerie qui semble avoir une influence sur les concentrations retrouvées en aval (figure 5.8A). Un apport non négligeable d'insecticides et tout particulièrement de carbaryl a été détecté entre ces deux stations.

Concernant les quantités retrouvées, un gradient entre l'amont et l'aval est visible du site L1 à L3 (avec SE = L3 en termes de quantité). On peut ainsi supposer que la contamination par les pesticides provienne de l'amont de ces sites d'étude, notamment d'autres cultures agricoles non viticoles, ce qui pourrait expliquer les fortes doses d'herbicides sur le site L1. Leur décroissance par la suite peut être liée à un effet de dilution dans le cours d'eau. Tout comme l'a mis en avant Bernard *et al.* (2019), la présence des pesticides dans l'environnement est sans équivoque reliée à leur usage.

Utilisation des biofilms comme descripteurs de l’état des cours d’eau

Cette étude de terrain a conforté l’intérêt d’analyser les biofilms de rivière pour décrire la qualité des cours d’eau. La pression anthropique omniprésente dans les eaux douces requiert des méthodes d’évaluation appropriées. L’échantillonnage actif ponctuel des eaux peut manquer des épisodes de contamination fugace ou refléter une situation de contamination très parcellaire. Au contraire, une mesure intégrative de l’exposition dans le temps donne une image plus réaliste des conditions de vie des organismes aquatiques. L’accumulation des contaminants dans le biote est de plus en plus souvent recommandée pour une évaluation de la contamination de l’environnement intégrée sur la durée de leur immersion dans le milieu. Cette étude confirme la capacité des biofilms périphytiques à intégrer la contamination, de par leur présence très répandue et permanente dans les cours d’eau. Ils sont également en mesure d’accumuler rapidement les pesticides organiques. La diversité des composantes du biofilm, organismes vivants comme matières minérales et organiques, fournit à cette matrice une capacité de rétention et d’accumulation des composés d’origine anthropique. Cette capacité peut évoluer avec les changements de structure et de composition taxonomique dans les biofilms après exposition aux contaminants. Toutes ces caractéristiques font des biofilms un outil innovant de suivi de la santé des milieux aquatiques (Fernandes *et al.*, 2020). Les biofilms sont en effet des systèmes complexes réactifs ; leurs propriétés et leur capacité à agir comme des échantillonneurs passifs naturels les placent comme des bio-indicateurs fiables de l’état des milieux.

Au-delà de la bioaccumulation, les pesticides peuvent avoir des effets délétères sur les biofilms. Ces impacts nocifs peuvent avoir lieu lors d’un pic de contamination consécutif par exemple à une période d’épandage, et alors induire une toxicité aiguë. Sur le long terme, en plus d’impacter les micro-organismes à leur échelle, ils peuvent en altérer le fonctionnement jusqu’à perturber la communauté et bouleverser l’écosystème entier. En raison des phénomènes de bioamplification, l’impact des pesticides sur les micro-organismes du biofilm peut se répercuter et s’amplifier tout le long de la chaîne trophique.

Conclusion et perspectives

L’étude présentée dans ce chapitre a permis de mettre en avant les nombreux avantages et l’efficacité des biofilms de rivières comme indicateurs de la contamination des eaux. Ces derniers sont présents tout au long de l’année dans les cours d’eau et sont faciles à échantillonner. Ils se placent comme d’excellents échantillonneurs biologiques naturels rendant compte de la contamination par les pesticides dans le temps.

Aujourd’hui cependant, certains aspects demeurent à approfondir afin de pouvoir utiliser les biofilms périphytiques comme des outils de surveillance précis. Par exemple, l’étude de la vitesse de désorption de certaines molécules en fonction des conditions abiotiques du milieu permettrait d’évaluer avec une plus grande

exactitude la relation entre l'exposition dans le milieu et la bioaccumulation des contaminants organiques. À terme, il serait possible d'établir un modèle prédictif qui, à partir de la concentration en contaminants dans le biofilm, permettrait de rendre compte de la contamination au travers une gamme de concentration probable à laquelle auraient été exposés les biofilms.

De même, les biofilms sont des outils fréquemment utilisés en écotoxicologie pour déterminer les effets toxiques des contaminants sur les milieux aquatiques. Pour aller plus loin, des études ont entrepris de coupler l'évaluation de la bioaccumulation (toxicocinétique : TK) dans les organismes aquatiques avec les impacts toxiques relatifs (toxicodynamique : TD) (Cedergreen *et al.*, 2017 ; Chaumet *et al.,* 2019b). Le fait d'associer les aspects TK-TD permet d'affiner les connaissances déjà existantes concernant les mécanismes d'action des contaminants, car bien que ces derniers soient absorbés par les micro-organismes des biofilms, ils ne présentent pas nécessairement d'effets toxiques observables, ni des effets proportionnels à la dose accumulée. C'est pourquoi une étude de cas telle que celle présentée au chapitre 4, p. 107, représente une base solide pour la compréhension de ces mécanismes en milieu naturel.

De manière complémentaire, les approches « omics » apparaissent comme particulièrement pertinentes à travers leur capacité à rendre compte, de manière globale et sensible, de la réponse des organismes exposés à l'échelle moléculaire. En particulier, la métabolomique non ciblée revêt un intérêt particulier vis-à-vis de la contamination chimique pour sa capacité à mesurer simultanément l'exposition (*i.e.* xéno-métabolome) et la réponse associée (*i.e.* endométabolome), tout en permettant de mieux comprendre les mécanismes en jeu (Al-Salhi *et al.*, 2012). Ainsi, son application sur les communautés microbiennes parallèlement à la mesure de descripteurs physiologiques/fonctionnels et structuraux dans le cadre conceptuel de l'*adverse outcome pathway* (Ankley *et al.,* 2009) pourrait permettre de faire le lien entre l'exposition et les fonctions écosystémiques portées par ces communautés, en vue de développer des descripteurs plus sensibles et précoces que ceux actuellement employés. Des travaux récents sur des biofilms ont effectivement montré une meilleure sensibilité des marqueurs métabolomiques vis-à-vis des descripteurs mesurés habituellement (Creusot *et al.,* 2022).

Références bibliographiques et numériques

Aguilera A., Souza-Egipsy V., San Martín-Úriz P., Amils R., 2008. Extraction of extracellular polymeric substances from extreme acidic microbial biofilms. *Applied Microbiology and Biotechnology* 78(6), 1079-1088. https://doi.org/10.1007/s00253-008-1390-9.

Al-Salhi R., Abdul-Sada A., Lange A., Tyler C.R., Hill E.M., 2012. The xenometabolome and novel contaminant markers in fish exposed to a wastewater treatment works effluent. *Environmental Science and Technology* 46(16), 9080-9088. https://doi.org/10.1021/es3014453.

Ankley G.T., Bencic D.C., Breen M.S., Collette T.W., Conolly R.B., Denslow N.D. *et al.*, 2009. Endocrine disrupting chemicals in fish : Developing exposure indicators and predictive

models of effects based on mechanism of action. *Aquatic Toxicology* 92(3), 168-178. https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2009.01.013.

Artigas J., Rossi F., Gerphagnon M., Mallet C., 2017. Sensitivity of laccase activity to the fungicide tebuconazole in decomposing litter. *Science of the Total Environment* 584-585, 1084-1092. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.01.167.

Battin T.J., Kaplan L.A., Denis Newbold J., Hansen C.M.E., 2003. Contributions of microbial biofilms to ecosystem processes in stream mesocosms. *Nature* 426(6965), 439-442. https://doi.org/10.1038/nature02152.

Bernard M., Boutry S., Lissalde S., Guibaud G., Saüt M., Rebillard J.P. *et al.*, 2019. Combination of passive and grab sampling strategies improves the assessment of pesticide occurrence and contamination levels in a large-scale Watershed. *Science of The Total Environment* 651, 684-695. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.09.202.

Biggs B.J.F., 1996. Patterns in Benthic Algae of Streams. *In* Stevenson R., Bothwell M., Lowe R., Thorp J., *Algal Ecology : freshwater benthic ecosystems*. San Diego : Academic Press, 754 p., 31-56.

Blanck H., Wängberg S.Â., Molander S., 1988. Pollution-induced community tolerance : a new ecotoxicological tool. *In* Cairns J., Pratt J.R., *Functional testing of aquatic biota for estimating hazards of chemicals*. Philadelphie : ASTM International, 242 p., 219-230.

Bonnineau C., Artigas J., Chaumet B., Dabrin A., Faburé J., Ferrari B.J.D. *et al.*, 2020. Role of biofilms in contaminant bioaccumulation and trophic transfer in aquatic acosystems : current state of knowledge and future challenges. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology,* 253, 115-153. https://doi.org/10.1007/398_2019_39.

Bottacin-Busolin A., Singer G., Zaramella M., Battin T.J., Marion A., 2009. Effects of streambed marphology and biofilm growth and the transient storage of solutes. *Environmental Science and Technology* 43(19), 7337-7342. https://doi.org/10.1021/es900852w.

Camotti Bastos M., Rheinheimer dos Santos D., Monteiro de Castro Lima J.A., Le Guet T., Santanna dos Santos M.A., Zanella R. *et al.*, 2018. Presence of anthropogenic markers in water : a case study of the Guaporé river watershed, Brazil. *Clean : Soil, Air, Water* 46(3). https://doi.org/10.1002/clen.201700019.

Cedergreen N., Dalhoff K., Li D., Gottardi M., Kretschmann A.C., 2017. Can toxicokinetic and toxicodynamic modeling be used to understand and predict synergistic interactions between chemicals ? *Environmental Science and Technology* 51(24), 14379-14389. https://doi.org/10.1021/acs.est.7b02723.

Cerema, 2017. *Étude de la problématique de pollution des eaux par le Diuron : cas de la Bretagne*. Rapport, 47 p. https://doc.cerema.fr/Default/doc/SYRACUSE/1476/etude-de-la-problematique-de-pollution-des-eaux-par-le-diuron-cas-de-la-bretagne?_lg=fr-FR.

Chaumet B., 2018. *Transfert et distribution des pesticides dans les biofilms en lien avec les effets toxiques*. Thèse de doctorat (géochimie et écotoxicologie), université de Bordeaux.

Chaumet B., Mazzella N., Neury-Ormanni J., Morin S., 2020. Light and temperature influence on diuron bioaccumulation and toxicity in biofilms. *Ecotoxicology* 29, 185-195. https://doi.org/10.1007/s10646-020-02166-8.

Chaumet B., Morin S., Boutry S., Mazzella N., 2019a. Diuron sorption isotherms in freshwater biofilms. *Science of The Total Environment* 651, 1219-1225. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.09.286.

Chaumet B., Morin S., Hourtané O., Artigas J., Delest B., Eon M. *et al.*, 2019b. Flow conditions influence diuron toxicokinetics and toxicodynamics in freshwater biofilms. *Science of the Total Environment* 652, 1242-1451. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.10.265.

Coat S., Monti D., Legendre P., Bouchon C., Massat F., Lepoint G., 2011. Organochlorine pollution in tropical rivers (Guadeloupe) : role of ecological factors in food web bioaccumulation. *Environmental Pollution* 159 (6), 1692-1701. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2011.02.036.

Creusot N., Casado-Martinez C., Chiaia-Hernandez A., Kiefer K., Ferrari B.J.D., Fu Q. *et al.*, 2020. Retrospective screening of high-resolution mass spectrometry archived digital samples can improve environmental risk assessment of emerging contaminants : a case study on antifungal azoles. *Environment International* 139, 105708. https://doi.org/10.1016/j.envint.2020.105708.

Creusot N., Chaumet B., Eon M., Mazzella N., Moreira A., Morin S., 2022. Metabolomics insight into the influence of environmental factors in responses of freshwater biofilms to the model herbicide diuron. *Environmental Science and Pollution Research* 29(20), 29332-29347. https://doi.org/10.1007/s11356-021-17072-7.

Davey M.E., O'Toole G.A., 2000. Microbial biofilms : from ecology to molecular genetics. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 64(4), 847-867. https://doi.org/10.1128/MMBR.64.4.847-867.2000.

Decho A.W., 2000. Microbial biofilms in intertidal systems : an overview. *Continental Shelf Research* 20(10-11), 1257-1273. https://doi.org/10.1016/S0278-4343(00)00022-4.

DeLorenzo M.E., Scott G.I., Ross P.E., 2001. Toxicity of pesticides to aquatic microorganisms : a review. *Environmental Toxicology and Chemistry / SETAC* 20(1), 84-98. https://doi.org/10.1002/etc.5620200108.

Demailly F., Elfeky I., Malbezin L., Le Guédard M., Eon M., Bessoule J.J. *et al.*, 2019. Impact of diuron and S-metolachlor on the freshwater diatom *Gomphonema gracile* : complementarity between fatty acid profiles and different kinds of ecotoxicological impact-endpoints. *Science of the Total Environment* 688, 960-969. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.06.347.

Derendorf H., Meibohm B., 1999. Modeling of pharmacokinetic/pharmacodynamic (PK/PD) relationships : concepts and perspectives. *Pharmaceutical Research* 16(2), 176-185. https://doi.org/10.1023/a:1011907920641.

Desiante W.L., Minas S.N., Fenner K., 2021. Micropollutant biotransformation and bioaccumulation in natural stream biofilms. *Water Research* 193, 116846. https://doi.org/10.1016/j.watres.2021.116846.

Dimitrov M.R., Kosol S., Smidt H., Buijse L., Van den Brink P.J., Van Wijngaarden R.P.A. *et al.*, 2014. Assessing effects of the fungicide tebuconazole to heterotrophic microbes in aquatic microcosms. *Science of the Total Environment* 490, 1002-1011. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.05.073.

El Azzi D., Laurent F., Roussiez V., Chou L., Guiresse M., Probst J.L., 2018. Adsorption of aclonifen, alachlor, Cd and Cu onto natural river suspended matter in the context of multi-pollutions : influence of contaminant co-presence and order of input into the aqueous solution. *Water* 10(9), 1222. https://doi.org/10.3390/w10091222.

Fernandes G., Camotti Bastos M., Paranhos Rosa de Vargas J., Le Guet T., Clasen B., Rheinheimer dos Santos D., 2020. The use of epilithic biofilms as bioaccumulators of pesticides and pharmaceuticals in aquatic environments. *Ecotoxicology* 29(9), 1293-1305. https://doi.org/10.1007/s10646-020-02259-4.

Flemming H.C., 1995. Sorption sites in biofilms. *Water Science and Technology* 32(8), 27-33. https://doi.org/10.1016/0273-1223(96)00004-2.

Flemming H.C., Wingender J., 2010. The biofilm matrix. *Nature Reviews Microbiology* 8(9), 623-633. https://doi.org/10.1038/nrmicro2415.

Headley J.V., Gandrass J., Kuballa J., Peru K.M., Gong Y., 1998. Rates of sorption and partitioning of contaminants in river biofilm. *Environmental Science and Technology* 32(24), 3968-3973. https://doi.org/10.1021/es980499l.

Huerta B., Rodriguez-Mozaz S., Nannou C., Nakis L., Ruhi A., Acuna V. *et al.*, 2015. Determination of a broad spectrum of pharmaceuticals and endocrine disruptors in biofilm from a waste water treatment plant-impacted river. *Science of the Total Environment* 540, 241-249. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.05.049.

Jenkinson H.F., Lappin-Scott H.M., 2001. Biofilms adhere to stay. *Trends in Microbiology* 9(1), 9-10. https://doi.org/10.1016/S0966-842X(00)01891-6.

Kohusova K., Havel L., Vlasak P., Tonika J., 2011. A long-term survey of heavy metals and specific organic compounds in biofilms, sediments, and surface water in a heavily affected river in the Czech Republic. *Environmental Monitoring and Assessment* 174(1-4), 555-572. https://doi.org/10.1007/s10661-010-1478-4.

Macary F., Morin S., Probst J.L., Saudubray F., 2014. A multi-scale method to assess pesticide contamination risks in agricultural watersheds. *Ecological Indicators* 36, 624-639. https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2013.09.001.

MacKay D., Fraser A., 2000. Bioaccumulation of persistent organic chemicals : mechanisms and models. *Environmental Pollution* 110(3), 375-391. https://doi.org/10.1016/S0269-7491(00)00162-7.

Mora-Gómez J., Freixa A., Perujo N., Barral-Fraga L., 2016. Limits of the biofilm concept and types of aquatic biofilms. *In* Romaní A.H., Guasch H., Balaguer M.D., *Aquatic biofilms : ecology, water quality and wastewater treatment*. Norfolk : Caister Academic Press, 229 p, 3-28. https://doi.org/https://doi.org/10.21775/9781910190173.01.

Morin S., Chaumet B., Mazzella N., 2018. A time-dose response model to assess diuron-induced photosynthesis inhibition in freshwater biofilms. *Frontiers in Environmental Science*. https://doi.org/10.3389/fenvs.2018.00131.

Morin S., Duong T.T., Herlory O., Feurtet-Mazel A., Coste M., 2008. Cadmium toxicity and bioaccumulation in freshwater biofilms. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 54(2), 173-186. https://doi.org/10.1007/s00244-007-9022-4.

Morin S., Gomez N., Tornes, E., Licursi, M., 2016. Benthic diatom monitoring and assessment of fresshwater environments : standard methods and future challenges. *In* Romaní A.H., Guasch H., Balaguer M.D., *Aquatic biofilms : ecology, water quality and wastewater treatment*. Norfolk : Caister Academic Press, 229 p, 111-124. https://doi.org/10.21775/9781910190173.06.

Neury-Ormanni J., Doose C., Majdi N., Vedrenne J., Traunspurger W., Morin S., 2020. Selective grazing behaviour of chironomids on microalgae under pesticide pressure. *Science of the Total Environment* 730, 138673. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.138673.

Neury-Ormanni J., Vedrenne J., Morin S., 2016. Who eats who in biofilms ? Exploring the drivers of microalgal and micro-meiofaunal abundance. *Botany Letters* 163(2), 83-92. https://doi.org/10.1080/23818107.2016.1151827.

Proia L., Cassió F., Pascoal C., Tlili A., Romaní A.M., 2012. The use of attached microbial communities to assess ecological risks of pollutants in river ecosystems : the role of heterotrophs. *The Handbook of Environmental Chemistry : Emerging and Priority Pollutants in Rivers* 19, 55-83.

Rabiet M., Margoum C., Gouy V., Carluer N., Coquery M., 2010. Assessing pesticide concentrations and fluxes in the stream of a small vineyard catchment. Effect of sampling frequency. *Environmental Pollution* 158(3), 737-748. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2009.10.014.

Rheinheimer dos Santos D., Monteiro de Castro Lima J.A., Paranhos Rosa de Vargas J., Camotti Bastos M., Santanna dos Santos M.A., Mondamert L. *et al.*, 2020. Pesticide bioaccumulation in epilithic biofilms as a biomarker of agricultural activities in a representative watershed. *Environmental Monitoring and Assessment* 192(6). https://doi.org/10.1007/s10661-020-08264-8.

Romaní A.M., Fund K., Artigas J., Schwartz T., Sabater S., Obst U., 2008. Relevance of polymeric matrix enzymes during biofilm formation. *Microbial Ecology* 56(3), 427-436. https://doi.org/10.1007/s00248-007-9361-8.

Sentenac H., Loyau A., Leflaive J., Schmeller D.S., 2021. The significance of biofilms to human, animal, plant and ecosystem health. *Functional Ecology* 36(2), 294-313. https://doi.org/10.1111/1365-2435.13947.

Tien C.J., Lin M.C., Chiu W.H., Chen C.S., 2013. Biodegradation of carbamate pesticides by natural river biofilms in different seasons and their effects on biofilm community structure. *Environmental Pollution* 179, 95-104. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2013.04.009.

Villeneuve A., Bouchez A., Montuelle B., 2011. *In situ* interactions between the effects of season, current velocity and pollution on a river biofilm. *Freshwater Biology* 56(11), 2245-2259. https://doi.org/10.1111/j.1365-2427.2011.02649.x.

Weston D.P., You J., Lydy M.J., 2004. Distribution and toxicity of sediment-associated pesticides in agriculture-dominated water bodies of California's central valley. *Environmental Science and Technology* 38(10), 2752-2759. https://doi.org/10.1021/es0352193.

Wolfaardt G.M., Lawrence J.R., Robarts R.D., Caldwell D.E., 1998. *In situ* characterization of biofilm exopolymers involved in the accumulation of chlorinated organics. *Microbial Ecology* 35(3), 213-223. http://www.jstor.org/stable/4251561.

Zhang L., Dong D., Hua X., Guo Z., 2018. Inhibitory effects of extracellular polymeric substances on ofloxacin sorption by natural biofilms. *Science of the Total Environment* 625, 178-184. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.12.271.

6

Évaluation du potentiel toxique des pesticides sur des espèces de microalgues marines

Valentin Dupraz, Farida Akcha, Hélène Budzinski, Sabine Stachowski-Haberkorn

Introduction et contexte

Contamination par les pesticides : de la parcelle agricole jusqu'au phytoplancton marin

Un peu moins de la moitié de la production carbonée annuelle de la biosphère terrestre est assurée par un groupe de micro-organismes flottant librement dans la couche éclairée des océans (Field *et al.*, 1998) : le phytoplancton. Celui-ci est constitué de microalgues (eucaryotes unicellulaires) et cyanobactéries (procaryotes unicellulaires), qualifiées de producteurs primaires. Elles partagent cette caractéristique avec les végétaux supérieurs, puisqu'elles métabolisent le CO_2 atmosphérique pour produire de la matière organique, grâce au processus de la photosynthèse. En zones côtières, les apports nutritifs continentaux (azote, phosphore) véhiculés par les fleuves enrichissent le milieu, favorisant la production phytoplanctonique et permettant ainsi le développement de réseaux trophiques estuariens et marins, riches et complexes.

Les zones côtières regroupent des habitats uniques et variés, qui fournissent à de nombreuses espèces aquatiques des espaces de refuge, de reproduction, de ponte, et des nourriceries pour les larves et les juvéniles. Elles sont également soumises à une forte pression anthropique : les nuisances et les pollutions provenant des rejets urbains, des industries, de l'agriculture, du tourisme et des multiples usages (pêche, aquaculture, activités nautiques) y sont nombreuses. Les rejets générés par les activités humaines contiennent des contaminants nocifs pour l'environnement, parmi lesquels figurent les pesticides. Du fait du continuum terre-mer, les pesticides ayant rejoint les écosystèmes aquatiques selon divers processus (cf. chapitre 1) peuvent se retrouver jusque dans le milieu marin côtier, où ils sont

susceptibles d'impacter des organismes non-cibles[19] tels que le phytoplancton. Il est donc crucial d'évaluer les effets toxiques directs et indirects des pesticides sur ces organismes afin de documenter l'impact de ces substances sur les producteurs primaires et ainsi d'aider la réglementation à mieux préserver le fonctionnement des écosystèmes qui en dépendent.

L'état des connaissances actuelles sur la contamination du milieu marin côtier, l'utilisation des microalgues marines en tant que modèles d'études permettant d'évaluer l'impact des pesticides, et enfin certains effets documentés de pesticides sur les microalgues sont détaillés dans ce chapitre.

Contamination du milieu marin côtier par les pesticides et conséquences sur les écosystèmes

La contamination des milieux aquatiques par les pesticides s'étend jusqu'au milieu marin littoral, où de nombreuses substances ont été détectées dans les estuaires (Topaz *et al.*, 2020), les lagunes et les eaux côtières (Munaron *et al.*, 2012). La connaissance de ces niveaux de contamination a bénéficié du développement récent des techniques d'échantillonnage passif de type POCIS : *Polar Organic Chemical Integrative Samplers* (Belles *et al.*, 2014) (cf. chapitre 3). Leur immersion pendant plusieurs semaines permet l'extraction des pesticides présents à l'état de traces dans les eaux côtières. En France, ces systèmes ont été utilisés ponctuellement dans les lagunes méditerranéennes et dans les bassins de production conchylicole (Munaron *et al.*, 2012). Cela a permis par exemple de détecter l'herbicide diuron (interdit depuis 2008[20]) dans tous les écosystèmes étudiés, avec une concentration maximale de 0,033 $\mu g \cdot L^{-1}$. À l'heure actuelle, il existe très peu de programmes de suivi de la contamination des eaux côtières par les pesticides, le site le plus étudié étant le bassin d'Arcachon. Depuis 2010, les réseaux REPAR (Réseau pesticides bassin d'Arcachon[21]) puis REMPAR (Réseau opérationnel de suivi et d'expertise sur la microbiologie, les macropolluants et les micropolluants au niveau du bassin d'Arcachon et de ses bassins-versants[22]) s'emploient à y rechercher plus de 101 pesticides. Les usages des pesticides ainsi que leur transfert dans les eaux et les sols sont décrits de manière détaillée dans le chapitre 1.

Parce qu'ils ont des modes d'action toxique très variés, la présence des pesticides sous forme de mélanges complexes (plus de deux substances) peut représenter un risque pour les espèces marines non-cibles. Les invertébrés et les microalgues ont été identifiés comme les organismes marins les plus à risque (Cruzeiro *et al.*, 2018), avec par exemple des impacts documentés sur l'abondance et la diversité

---

19. Organismes non ciblés *a priori* par les substances actives des pesticides.

20. Mais autorisé comme biocide pour la protection des pellicules et ouvrages de maçonnerie (European Chemicals Agency, 2022).

21. https://www.siba-bassin-arcachon.fr/node/24.

22. https://www.siba-bassin-arcachon.fr/qualite-de-l-eau/rempar.

du phytoplancton marin (D'Costa *et al.*, 2017). L'exposition aux pesticides peut également altérer la valeur trophique du phytoplancton en modifiant ses teneurs en lipides et en acides gras (Gauthier *et al.*, 2020), dont certains sont essentiels pour le développement et la croissance des maillons supérieurs (herbivores et carnivores). Lorsque les consommateurs primaires tels que les mollusques bivalves filtreurs se nourrissent de phytoplancton contaminé, un transfert trophique de polluants chimiques peut se produire (Akcha *et al.*, 2022). Le phytoplancton peut donc être une cible pour les polluants chimiques, dont les pesticides, mais également un vecteur de contamination par la voie trophique. Le transfert de substances chimiques et de leurs métabolites potentiellement plus toxiques (Boxall *et al.*, 2004) aux organismes supérieurs, même loin des sources d'émission, favorise la bioamplification des polluants à travers les réseaux trophiques. Cela met en danger la diversité et le fonctionnement des écosystèmes aquatiques, au même titre que la santé de l'homme *via* la consommation de produits de la mer (Walters *et al.*, 2016). Ainsi, les polluants chimiques peuvent, de par leur impact sur le phytoplancton marin, avoir un effet indirect sur le cycle du carbone et la régulation du climat, comme suggéré récemment dans le cas des pesticides (Rumschlag *et al.*, 2022).

Les microalgues marines comme organismes modèles pour l'étude de la toxicité des pesticides en milieu marin

Les microalgues, outre les fonctions écologiques majeures auxquelles elles contribuent, constituent également des organismes modèles de choix pour les études en laboratoire. En effet, elles ont un cycle de vie court, et de nombreuses espèces sont cultivées couramment en laboratoire à des fins expérimentales. Il est donc possible de réaliser des études écotoxicologiques, visant à tester les effets toxiques des contaminants chimiques sur des espèces choisies, en conditions contrôlées de laboratoire.

L'écotoxicologie recouvre les domaines de l'écologie et de la toxicologie. Cette science étudie les impacts des contaminants sur la structure et le fonctionnement des écosystèmes, mais également la façon dont les organismes transportent et modifient ces substances.

Les études écotoxicologiques qui déterminent les relations concentration-effet permettent d'obtenir des valeurs chiffrées de la toxicité des molécules définies de la manière suivante : la toxicité aiguë d'un contaminant est généralement déterminée après une exposition de courte durée à une large gamme de concentrations. Cette toxicité est exprimée en CE_X, c'est-à-dire la concentration efficace de la substance qui entraîne une réduction du paramètre mesuré de X % par rapport à un témoin. Plus la valeur de la CE50 est élevée, moins la substance est considérée comme toxique. La CE50 est utilisée pour décrire les effets aigus tandis que la CE10 peut être considérée comme un seuil à partir duquel on observe un effet significatif.

Les tests monospécifiques représentent l'approche la plus simple et la plus pratique à mettre en œuvre lorsqu'il s'agit d'étudier la toxicité d'une substance sur le phytoplancton. En effet, le principe consiste à cultiver une espèce dans des conditions physiques (lumière, température) et chimiques (pH, sels nutritifs, contaminants) prédéfinies et contrôlées. Les tests normalisés pour les espèces marines (ISO 10253:2016[23]) permettent la production de jeux de données robustes, notamment utilisées pour l'évaluation de l'autorisation de mise sur le marché d'une molécule ou la réévaluation de sa toxicité environnementale.

La plupart des tests de toxicité développés se font sur des temps courts, en général de 48 à 96 heures. L'inhibition de la croissance est le paramètre le plus souvent exploité par le biais de la mesure de l'accroissement de la biomasse (*via* la densité cellulaire mesurée par cytométrie en flux ou comptage au microscope ou directement par absorbance/fluorescence).

Toxicité des pesticides pour les microalgues marines

Par leur proximité métabolique (photosynthèse) et biochimique (pigments, enzymes, etc.) avec les végétaux supérieurs visés par les usages, les microalgues représentent des cibles potentielles pour les herbicides (DeLorenzo *et al.*, 2001). Ces substances sont celles dont les effets toxiques sur les microalgues sont les plus documentés, les microalgues marines restant néanmoins nettement moins étudiées que les microalgues d'eau douce (Vonk et Kraak, 2020). Cette revue récente montre que les herbicides dont les effets sont les plus documentés sur les microalgues marines sont le 2,4-D, l'atrazine, le diuron, l'irgarol et la simazine. Les espèces les plus étudiées sont la diatomée *Skeletonema marinoi* (anciennement *S. costatum*), également espèce modèle dans nos travaux, et la chlorophyte *Dunaliella tertiolecta*. Les auteurs ont relevé les CE50 les plus basses pour les inhibiteurs du photosystème II (PSII) qui empêchent le bon déroulement de la photosynthèse, processus vital pour la plupart des microalgues (Jones et Kerswell, 2003). Ainsi, le diuron a une CE50 de 0,6 $\mu g \cdot L^{-1}$, une concentration proche de celle retrouvée en milieu marin côtier dans le cas de pics de contamination. Viennent ensuite, par ordre de toxicité croissante, l'atrazine et l'isoproturon. Le diuron et l'isoproturon font partie des substances étudiées dans ces travaux.

Parmi les 18 substances (herbicides, insecticides et fongicides) testées dans ce chapitre (tableau 6.1), les deux inhibiteurs du PSII (diuron et isoproturon) comptent parmi les substances les plus toxiques pour le phytoplancton, le diuron étant cinq à dix fois plus toxique que l'isoproturon. Pour, le flazasulfuron (inhibiteur de l'acétolactate synthase, ALS), la CE50 reportée (1,29 $\mu g \cdot L^{-1}$) semble indiquer une forte toxicité pour la microalgue d'eau douce *Raphidocelis subcapitata*.

23. ISO 10253:2016, 2016. Water quality : Marine algal growth inhibition test with *Skeletonema sp.* and *Phaeodactylum tricornutum*. Geneva (Switzerland) : International Organization for Standardization, 19 p.

Cependant, cette valeur provient de la seule étude à avoir estimé une CE50 pour cette substance et ne permet donc pas d'apprécier correctement la toxicité du flazasulfuron pour les microalgues. Les autres substances herbicides testées présentent en général une toxicité plus faible pour les microalgues marines, du fait d'un mode d'action plus spécifique aux plantes supérieures et/ou de leurs propriétés physico-chimiques.

Les substances insecticides étudiées montrent une toxicité aiguë limitée pour les microalgues. En effet, leurs modes d'action ciblent plus spécialement certaines structures du système nerveux des insectes, inexistantes chez les microalgues.

Les fongicides sont considérés comme davantage toxiques pour les microalgues en raison d'un mode d'action à large spectre, puisque les champignons partagent un grand nombre de structures et d'enzymes avec les organismes végétaux et animaux (Stenersen, 2004). Cependant, la toxicité des fongicides de synthèse vis-à-vis du phytoplancton est globalement très peu documentée. Les deux fongicides de la famille des strobilurines, l'azoxystrobine et le krésoxim-méthyl, semblent peu toxiques pour les microalgues, malgré leur mode d'action ciblant l'activité respiratoire des mitochondries (tableau 6.1). Le quinoxyfène est reporté comme modérément toxique pour les microalgues mais il est interdit depuis fin 2018. Enfin, concernant la spiroxamine, une morpholine inhibant la synthèse des stérols, très peu d'informations sont disponibles en dehors de bases de données où des CE50 de 1,18 et 1,30 $\mu g \cdot L^{-1}$ sont mentionnées, témoignant d'une toxicité élevée pour les microalgues.

Cet aperçu de la littérature et des bases de données relatant les effets toxiques, pour le phytoplancton, des pesticides étudiés dans le cadre des résultats présentés dans cet ouvrage, met en évidence la toxicité supérieure des biocides et herbicides ciblant le photosystème II. Cependant, d'autres substances n'ayant pas, *a priori*, un mode d'action ciblant spécifiquement les microalgues s'avèrent également particulièrement toxiques (spiroxamine, par exemple).

Tableau 6.1. Présentation des pesticides testés, de leur mode d'action et de leur toxicité aiguë relevée sur le taux de croissance (μ) de microalgues dulçaquicoles[(D)] ou marines[(M)].

Les valeurs entre parenthèses représentent l'intervalle de confiance à 95 % (si disponible).

Classe	Substance	Mode d'action	Espèce[1] testée	CE50 en $\mu g \cdot L^{-1}$	Référence(s)
Biocides	Diuron[2]	Inhibition de la photosynthèse au niveau du PSII.	*S. marinoi*[(M)]	5,90 (4,70-7,40)	Bao *et al.*, 2011
	Isoproturon[2]		*C. gracilis*[(M)]	26,8 (24,3-30,0)	Arzul *et al.*, 2006
	Fipronil[3]	Blocage des canaux chlorures (récepteurs GABA et glutamate).	*D. tertiolecta*[(M)]	631	Overmyer *et al.*, 2007

Classe	Substance	Mode d'action	Espèce[1] testée	CE50 en µg · L⁻¹	Référence(s)
Herbicides	Diquat dibromide	Inhibition de la photosynthèse au niveau du PSI.	*R. subcapitata*(D)	Pas d'effet	Cedergreen et Streibig, 2005
	Flazasulfuron	Inhibition de l'acétolactate synthase.	*R. subcapitata*(D)	1,29	Mohammad *et al.*, 2005
	Métazachlore	Inhibition élongases et géranylgéranyl-pyrophosphate.	*S. vacuolatus*(D)	46,5 (43,1-51,9)	Faust *et al.*, 2003
	S-métolachlore		*T. suecica*(M)	21 300 (19 850-22 190)	Ebenezer et Ki, 2013
	Glyphosate	Inhibition de l'EPSP[6] synthase.	*R. subcapitata*(D)	270 000 (± 22 800)	Cedergreen et Streibig, 2005
	AMPA	Non déterminé.	*R. subcapitata*(D)	> 100 000	Di Poi *et al.*, 2018
Insecticides	α-cyperméthrine	Modulation de la fermeture des canaux sodium voltage-dépendants.	*S. marinoi*(M)	71,4 (51,5-99,1)	Wang *et al.*, 2012
	Acrinathrine		*R. subcapitata*(D)	3,5	PPDB[4]
	Chlorpyrifos	Inhibition de l'acétylcholinestérase.	*S. marinoi*(M)	300 (270-340)	PEDB-U.S. EPA[5]
	Chlorpyrifos-méthyl		*R. subcapitata*(D)	570	PPDB
	Imidaclopride	Agoniste des récepteurs nicotiniques à acétylcholine.	*D. subspicatus*(D)	Pas d'effet (max = 157 500)	Malev *et al.*, 2012
Fongicides	Azoxystrobine	Inhibition de la chaîne respiratoire au niveau du complexe III.	*S. marinoi*(M)	453 (386-532)	PEDB-U.S. EPA
	Krésoxim-méthyl		*S. marinoi*(M)	293	PEDB-U.S. EPA
	Quinoxyfen	Perturbation de la signalisation cellulaire.	*S. marinoi*(M)	130 (62-280)	PEDB-U.S. EPA
	Spiroxamine	Inhibition de la synthèse des stérols.	*S. marinoi*(M)	1,18 (0,63-1,29)	PEDB-U.S. EPA

[1] Espèces (dans l'ordre d'apparition) : *Skeletonema marinoi*(M) ; *Chaetoceros gracilis*(M) ; *Dunaliella tertiolacta*(M) ; *Raphidocelis subcapitata*(D) ; *Scenedesmus vacuolatus*(D) ; *Tetraselmis suecica*(M) ; *Desmodesmus subspicatus*(D).

[2] Approuvé pour son action herbicide/algicide comme agent de protection des pellicules et ouvrages de maçonnerie (European Chemicals Agency, 2022).

[3] Approuvé comme insecticide, acaricide et autres produits de contrôle des arthropodes, en dehors des usages agricoles (European Chemicals Agency, 2022).

[4] *Pesticide Properties DataBase* (Lewis *et al.*, 2016).

[5] *Pesticide Ecotoxicity Database*. https://ecotox.ipmcenters.org/index.cfm?menuid=5.

[6] 5-énolpyruvylshikimate-3-phosphate.

Comment évaluer la toxicité des substances en mélange ?

Dans le milieu naturel, une multitude de substances chimiques coexistent, dont il faut être en mesure d'évaluer ou de prédire la toxicité. Ces mélanges de substances peuvent être issus de sources diverses, dont :
– des produits contenant plus d'une substance : c'est le cas de nombreuses formulations commerciales de produits phytosanitaires, où la substance active est utilisée en combinaison avec une ou plusieurs autres substances (adjuvant, seconde substance active, par exemple) ;
– des substances issues d'une source de pollution commune : par exemple, plusieurs pesticides utilisés conjointement sur une parcelle pourront ensuite être retrouvés en mélange dans les écosystèmes aquatiques à proximité ;
– des substances issues de différentes sources de pollution se rencontrant dans le milieu aquatique : par exemple, une pollution par les pesticides en amont se combinant avec celle d'une station d'épuration (STEP) en aval.

La majorité des études écotoxicologiques se focalisent encore aujourd'hui sur les effets des substances prises individuellement et font donc l'hypothèse que la toxicité d'un mélange peut être prédite sur la base de la toxicité des substances seules. Bien que cela soit vrai pour une majorité de mélanges, dans certains cas, l'effet combiné de deux substances peut s'avérer significativement supérieur à celui prédit sur la base de la toxicité des substances seules : c'est ce qu'on appelle la synergie (Cedergreen, 2014).

Ce constat a amené à des préconisations pour traiter cette problématique des mélanges dans le cadre réglementaire (Backhaus et Faust, 2010). La principale préoccupation est « l'effet cocktail », qui se traduit par une toxicité d'un mélange potentiellement supérieure à celle prédite en additionnant la toxicité des substances seules. La réglementation actuelle impose la détermination de valeurs seuils pour évaluer la potentielle toxicité des substances chimiques connues, telle que la NOEC[24]. Cependant, des études réalisées sur des microalgues seules et des communautés périphytiques ont démontré que des mélanges d'herbicides, présents à des concentrations individuelles inférieures ou égales à leurs NOEC respectives, pouvaient induire une toxicité significative (Arrhenius *et al.*, 2004 ; Faust *et al.*, 2001). D'autres études aboutissant à des conclusions similaires sont citées dans le rapport de Kortenkamp *et al.* (2009) qui présente l'état de l'art sur la toxicité des mélanges de contaminants. De ce constat découle la nécessité d'établir une méthodologie adaptée à l'étude de la toxicité des mélanges dans le cadre de la réglementation actuelle.

Or, il n'est pas envisageable de tester la toxicité de toutes les combinaisons possibles de substances retrouvées dans l'environnement. Ainsi, deux modèles mathématiques permettant la prédiction de la toxicité de plusieurs substances en mélange sont principalement utilisés : le modèle « d'additivité des concentrations »

24. *No observed effect concentration* : concentration sans effet observé.

(*Concentration Addition*, CA en anglais) et le modèle « d'action indépendante » (*Independent Action*, IA en anglais).

On reconnaît généralement trois types d'interaction pouvant résulter d'un mélange de plusieurs substances :
– l'additivité se caractérise par une toxicité observée similaire à celle prédite par le modèle utilisé ;
– l'antagonisme se caractérise par une toxicité observée inférieure à celle prédite par le modèle utilisé ;
– la synergie se caractérise par une toxicité observée supérieure à celle prédite par le modèle utilisé.

Ces interactions sont illustrées par des résultats présentés dans la partie suivante.

L'intérêt de l'approche présentée, qui vise à évaluer les effets de mélanges binaires contenant donc deux substances, est de pouvoir prédire l'interaction résultant de deux molécules si l'organisme y est exposé dans son environnement naturel. Comme déjà précisé précédemment, ce choix de combinaisons ne permet pas de rendre compte de la complexité de la contamination chimique environnementale. Cependant, l'étude des mélanges binaires est également justifiée par le fait que, dans un échantillon environnemental contenant un mélange de pesticides, la toxicité est parfois causée par seulement deux à trois substances, le reste ne contribuant que de façon marginale à la toxicité observée (Junghans *et al.*, 2006 ; Baas *et al.*, 2009). Aussi, si l'on souhaite évaluer la toxicité d'un mélange complexe présent dans l'environnement, cette approche peut être dérivée pour être utilisée sur un plus grand nombre de substances. Il est par exemple possible de recourir à l'emploi d'échantillonneurs passifs pour disposer d'un mélange représentatif des substances, accumulables et extractibles par le dispositif utilisé, présentes dans le cours d'eau échantillonné (cf. chapitre 3). Bien que ceux-ci soient davantage utilisés pour le suivi de la contamination chimique dans l'eau, ils ont d'ores et déjà été utilisés dans plusieurs études afin d'évaluer la toxicité de substances chimiques variées. Par exemple, Kim Tiam *et al.* (2014) se sont intéressés à la toxicité d'extraits de POCIS issus de la rivière Morcille (Beaujolais, France) pour des communautés naturelles de biofilm. La toxicité d'extraits de POCIS a également été étudiée sur des microalgues d'eau douce (Vermeirssen *et al.,* 2010) et marine (Booij *et al.*, 2014).

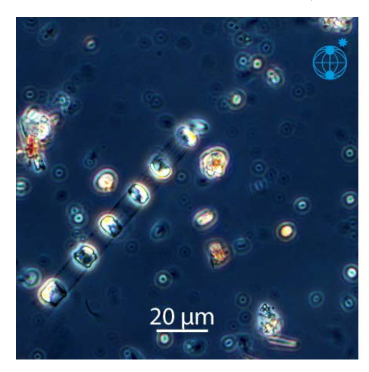
Cette approche est également présentée dans les parties 3 et 4 (p. 179 et 182) de ce chapitre, pour proposer une identification des composés les plus toxiques pour les microalgues marines testées, échantillonnés dans le bassin-versant expérimental de la zone d'étude.

Deux microalgues marines comme espèces modèles

La diatomée Skeletonema marinoi

Skleletonema marinoi (figure 6.1) est couramment retrouvée dans les eaux côtières de la façade atlantique française, ainsi qu'en mers Méditerranée et Adriatique où

elle est responsable d'efflorescences (*bloom* en anglais) durant la période hivernale. Cette espèce est également très utilisée en aquaculture, du fait de sa facilité de mise en culture et de son contenu riche en différents stérols (Muller-Feuga *et al.*, 2003). Elle compte parmi les espèces ayant fait l'objet d'une normalisation pour la réalisation de tests de toxicité (norme ISO 10253:2016).



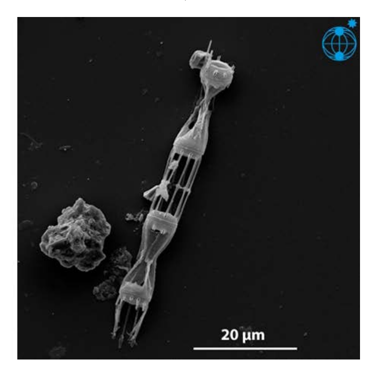


Figure 6.1. Cellules de *Skeletonema marinoi* observées par microscopie à contraste de phase (à gauche, × 400), par microscopie électronique à balayage (à droite). © Creative Commons Attribution 3.0.

L'haptophyte Tisochrysis lutea

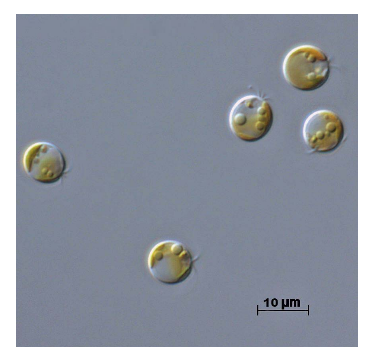


Figure 6.2. Cellules de *Tisochrysis lutea* observées par microscopie optique (© CCAP).

La microalgue *Tisochrysis lutea* (figure 6.2), précédemment identifiée comme *Isochrysis* affinis *galbana* clone *Tahiti* (T-iso), est une haptophyte de la famille des Isochrysidacées, généralement retrouvée dans les eaux côtières tropicales. *T. lutea* est très utilisée en aquaculture pour le nourrissage des juvéniles de mollusques et crustacés. Cela est dû à son contenu riche en lipides comme les stérols, mais également à la présence d'acides gras polyinsaturés (Muller-Feuga *et al.*, 2003).

Effets des substances seules et en mélanges sur les microalgues

Ce paragraphe décrit la méthodologie utilisée pour évaluer la toxicité de 18 pesticides choisis sur les microalgues *T. lutea* et *S. marinoi* et présente les résultats.

Substances seules

Dans le but d'évaluer la toxicité de 18 pesticides[25] (tableaux 6.1 et 6.2) vis-à-vis des microalgues marines *T. lutea* et *S. marinoi*, un test de toxicité miniaturisé a été adapté, permettant de tester simultanément 6 concentrations. Pour chaque espèce, la toxicité a ainsi été évaluée en microplaques de 48 puits, en triplicats, sur une durée de 96 heures.

La croissance des microalgues dans la microplaque a été évaluée quotidiennement en mesurant la fluorescence de la chlorophylle (après vérification d'une corrélation entre fluorescence et densité cellulaire), pour calculer leur taux de croissance. Pour chaque expérimentation, les concentrations nominales en pesticides ont été mesurées analytiquement (Dupraz *et al.*, 2019b).

Pour chaque pesticide et chaque espèce de microalgue, une valeur de CE50 (± intervalle de confiance à 95 %, IC_{95}) a ensuite été calculée en modélisant une courbe concentration-réponse (modèle log-logistique). Un exemple de courbe concentration-réponse est présenté ci-dessous dans la figure 6.3.

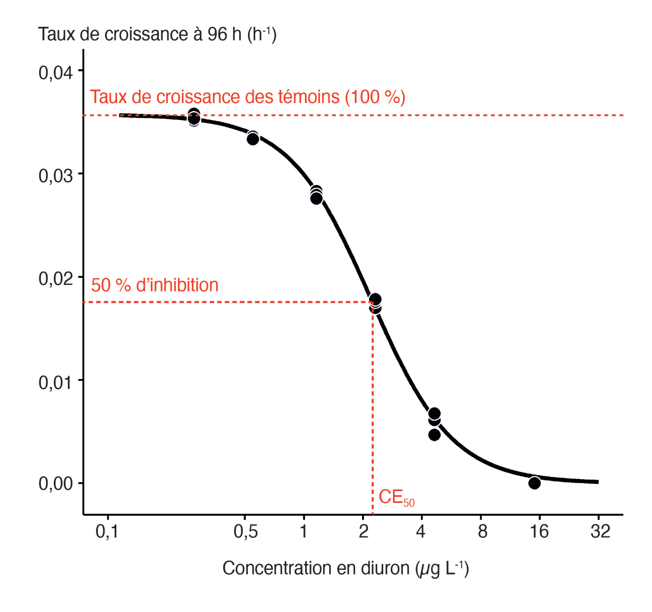


Figure 6.3. Exemple de courbe concentration-réponse obtenue avec le diuron pour l'espèce *T. lutea*. Les points représentent les triplicats expérimentaux pour chaque concentration testée. En rouge sont représentés par des lignes en pointillé le taux de croissance des témoins (100 %) et le taux de croissance pour 50 % d'inhibition (en ordonnées), ainsi que la concentration correspondante en diuron (en abscisse) reportée *via* la courbe-concentration-réponse modélisée (courbe noire).

Pour certains pesticides, aucune CE50 n'a pu être calculée car aucune toxicité n'a été observée dans la gamme testée. C'est notamment le cas de la plupart des insecticides, hormis le chlorpyrifos-méthyl (tableau 6.2). C'est également le cas

25. Sélectionnées pour leur toxicité potentielle sur la base d'une enquête réalisée sur le site d'étude.

des herbicides : une CE50 a pu être calculée seulement pour le métazachlore et le S-métolachlore, uniquement pour l'espèce *S. marinoi*. Au contraire, tous les fongicides testés ont démontré une toxicité significative sur les deux espèces de microalgues, notamment la spiroxamine avec des valeurs de CE50 relativement basses. Le diuron et l'isoproturon ont également démontré une toxicité élevée pour les deux espèces de microalgues, ce qui n'est pas surprenant sachant que ces deux molécules sont notamment utilisées comme anti-algues pour la protection des pellicules et ouvrages de maçonnerie (European Chemicals Agency, 2022). À l'issue des tests de toxicité réalisés sur les substances seules, les substances les plus toxiques pour chaque espèce ont été sélectionnées pour des expérimentations en mélanges binaires.

Tableau 6.2. Récapitulatif des CE50 (en $\mu g \cdot L^{-1}$, ± IC_{95}) obtenues pour chacun des 18 pesticides testés sur les microalgues *T. lutea* et *S. marinoi*.

Classe	Substance	CE50 en $\mu g \cdot L^{-1}$	
		T. lutea	*S. marinoi*
Biocides	Diuron (DIU)[1]	2,20 ± 0,071	7,26 ± 1,23
	Isoproturon (ISO)[1]	8,55 ± 3,39	21,2 ± 1,80
	Fipronil (FIP)[2]	Pas d'effet[3]	
Herbicides	Diquat (DIQ)	Pas d'effet	
	Flazasulfuron (FLA)	Pas d'effet	
	Métazachlore (METZ)	Pas d'effet	245 ± 24,7
	S-métolachlore (S-MET)	Pas d'effet	1032 ± 138
	Glyphosate (GLY)	Pas d'effet	
	AMPA (AMP)	Pas d'effet	
Insecticides	α-cyperméthrine (α-CYP)	Pas d'effet	
	Acrinathrine (ACR)	Pas d'effet	
	Chlorpyrifos (CHL)	Pas d'effet	
	Chlorpyrifos-méthyl (CHL-M)	449 ± 6,70	Pas d'effet
	Imidaclopride (IMI)	Pas d'effet	
Fongicides	Azoxystrobine (AZO)	434 ± 144	917 ± 189
	Krésoxim-méthyl (KRE-M)	414 ± 65	482 ± 56,9
	Quinoxyfen (QUI)	378 ± 29,6	33,0 ± 8,49
	Spiroxamine (SPI)	3,37 ± 0,74	12,4 ± 5,63

[1] Approuvé pour son action herbicide/algicide comme agent de protection des pellicules et ouvrages de maçonnerie (European Chemicals Agency, 2022).

[2] Approuvé comme insecticide, acaricide et autre produit de contrôle des arthropodes, en dehors des usages agricoles (European Chemicals Agency, 2022).

[3] Pas d'effet dans la gamme de concentrations testées (nominal théorique : 1 à 1 000 $\mu g \cdot L^{-1}$).

Mélanges binaires

Six mélanges binaires ont été testés sur *T. lutea* et sept sur *S. marinoi* (tableau 6.3). L'ensemble des effets d'interaction observés est résumé dans le tableau 6.3.

Tableau 6.3. Effets d'interaction des huit mélanges binaires testés sur *T. lutea* et *S. marinoi*.

Mélange	Mode d'action	*T. lutea*	*S. marinoi*
		Interaction	Interaction
Diuron + isoproturon	Similaire	Synergie	Additivité
Isoproturon + métazachlore	Différent	Non testé	Synergie
Isoproturon + azoxystrobine		Additivité	Antagonisme
Isoproturon + quinoxyfen		Antagonisme	Antagonisme
Isoproturon + spiroxamine		Antagonisme	Antagonisme**
Spiroxamine + quinoxyfen		Synergie	Antagonisme
Spiroxamine + chlorpyrifos-méthyl		Antagonisme/Synergie*	Non testé
Spiroxamine + métazachlore		Non testé	Antagonisme

* L'effet observé est dépendant de la proportion de ces substances dans le mélange.
** L'interaction observée pour le mélange isoproturon + spiroxamine sur l'espèce *S. marinoi* est la seule pouvant être considérée comme significative d'après les recommandations de Belden *et al.* (2007).

Le mélange diuron + isoproturon, deux molécules partageant le même mode d'action, se comporte de manière additive pour les deux espèces de microalgues. Les effets du mélange sont équivalents à l'addition des effets des molécules seules. Au contraire ; le mélange isoproturon + métazachlore se rapproche d'un effet synergique significatif, se traduisant par un effet supérieur du mélange par rapport à l'addition des effets des molécules seules.

Les mécanismes cellulaires et physiologiques qui sous-tendent les interactions observées pour les mélanges diuron + isoproturon et isoproturon + métazachlore (*S. marinoi* uniquement) ont été étudiés de manière détaillée dans Dupraz *et al.* (2019a). Cela a permis de montrer que les effets de ces mélanges au niveau cellulaire sont concomitants avec l'effet d'interaction mesuré. Par exemple, pour le mélange isoproturon + métazachlore testé sur *S. marinoi*, une diminution significativement supérieure du rendement photosynthétique a été observée pour le mélange comparé aux effets additionnés des molécules seules, ce qui pourrait expliquer la synergie observée.

Certaines rares interactions synergiques peuvent s'avérer potentiellement problématiques pour la santé des écosystèmes, comme c'est le cas du mélange isoproturon + métazachlore illustré dans ce chapitre, d'autant plus lorsque les deux substances coexistent dans l'environnement. En effet, ces deux pesticides sont couramment utilisés de manière conjointe, par exemple pour la culture du colza, du tournesol, et dans les vergers. Cette interaction synergique représente donc un risque réel pour les espèces susmentionnées. Par conséquent, il paraît pertinent de

recommander l'étude des interactions binaires des pesticides couramment utilisés de manière conjointe sur les espèces qui y sont le plus exposées.

Effets de mélanges complexes issus de l'environnement

Présentation du site d'étude et stratégie d'échantillonnage

Le site d'étude du projet PhytoCOTE (figure 6.4) ayant déjà été présenté, seules les informations nécessaires à la bonne compréhension sont indiquées ci-après. Trois stations ont été échantillonnées selon un gradient amont-aval : la Livenne à Menanteau (L1), constituant le point d'entrée du bassin-versant (BV) et représentant donc le « bruit de fond » de contamination ; la Livenne recevant l'exutoire du ruisseau des Souches à Reguignon (SE) caractérisé par les activités viticoles des parcelles situées le long de ce ruisseau ; le point de sortie du bassin-versant à Vignolles (L4), représentant donc la contamination potentielle la plus élevée, combinant la contamination d'origine viticole du ruisseau des Souches avec les effluents de la STEP et de la distillerie.

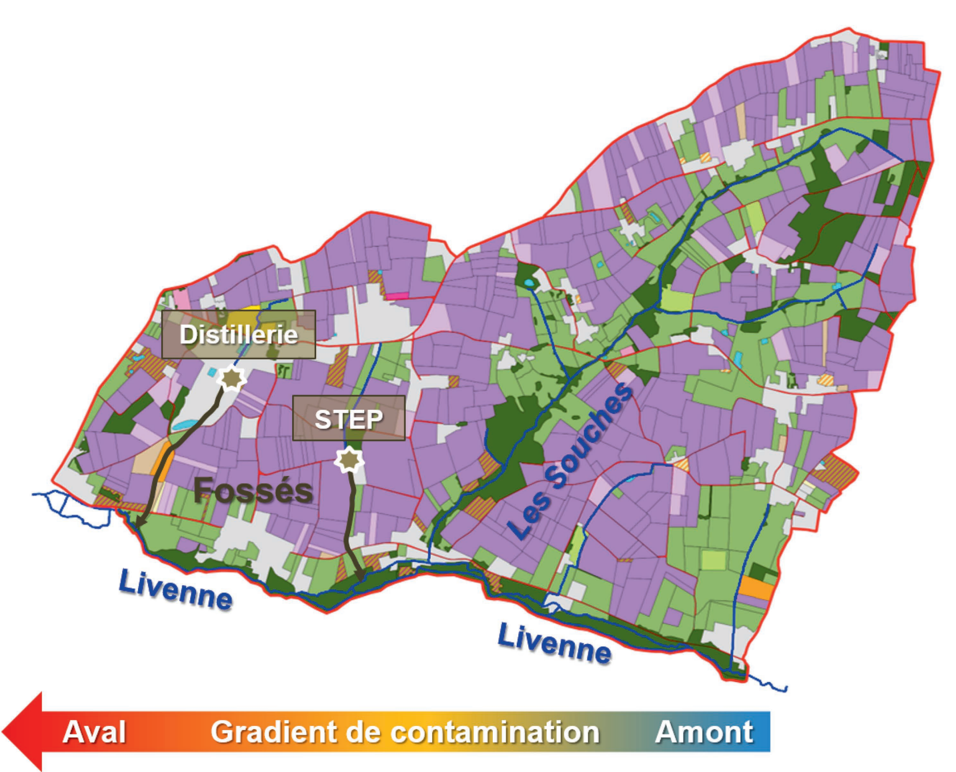


Figure 6.4. Carte du site d'étude avec ses limites (en rouge), les parcelles viticoles (en violet), les deux cours d'eau (en bleu), les trois stations échantillonnées (L1 en bleu, SE en rouge et L4 en violet, couleurs reprises pour l'illustration des résultats ci-après), les deux activités pouvant participer à la toxicité des extraits de POCIS, une distillerie et une station d'épuration (STEP), ainsi que le gradient théorique de contamination de l'amont vers l'aval (L1 vers L4).
Source : © UR ETBX - Irstea Bordeaux, SCAN25 (IGN), BD Topo (IGN).

Afin d'étudier la toxicité des mélanges complexes issus des trois stations, une stratégie spécifique a été mise en place. Des POCIS ont été choisis pour l'échantillonnage de la Livenne (stations L1 et L4) et du ruisseau des Souches (station SE).

Pour chaque station, quatre campagnes d'échantillonnage ont été réalisées en 2017 : 1) du 20 janvier au 20 février, 2) du 22 mars au 24 avril, 3) du 24 avril au 24 mai et 4) du 24 mai au 22 juin. Pour chaque station et chaque période, 12 POCIS ont été déployés, maintenus ensemble dans une cage en plastique (deux caisses de 6 POCIS). Pour chaque période, 12 POCIS supplémentaires ont été conservés à -20 °C comme témoins négatifs non-exposés. Après récupération, les POCIS ont été transportés dans une glacière puis conservés à -20 °C avant leur extraction au laboratoire.

Extraction des POCIS

Un protocole d'extraction a été mis en œuvre, permettant de récupérer un extrait concentré des contaminants accumulés par les échantillonneurs passifs. La qualité de l'extraction a été validée par plusieurs témoins d'extraction : 1) des témoins négatifs, constitués des extraits des lots de POCIS non-exposés pour chaque période ; 2) des témoins positifs, correspondant à des extraits contenant une quantité connue de diuron, afin de valider que le procédé d'extraction permet bien d'obtenir la toxicité attendue avec un polluant connu. Le protocole détaillé d'extraction est décrit dans Dupraz (2018).

Effets de mélanges complexes issus de l'environnement

Les extraits de POCIS obtenus sont considérés comme des mélanges complexes représentatifs de la contamination réelle des trois stations échantillonnées pour les molécules qui sont extractibles par ce dispositif. Certaines molécules, le glyphosate par exemple, ne sont pas extractibles par la technique utilisée. En effet, l'accumulation des substances dépend de leurs propriétés physico-chimiques spécifiques, de leur affinité pour le matériau qui constitue l'échantillonneur, ainsi que des paramètres du milieu échantillonné (débit, etc.). Bien que les POCIS et la technique d'extraction employés conviennent pour une majorité de pesticides, ces extraits constituent donc une image légèrement déformée de la contamination réelle des cours d'eau.

Afin d'évaluer la toxicité des extraits de POCIS, les extraits purs ont été utilisés directement dans le milieu de culture des microalgues à cinq dilutions. À l'issue des tests de toxicité, une CE50, exprimée en mg POCIS mL^{-1} (correspondant à une quantité de phase POCIS extraite par unité de volume), a été calculée pour chaque station et chaque période afin d'évaluer la variation spatio-temporelle de la toxicité des extraits de POCIS (figure 6.5).

Pour chaque période échantillonnée, le test de toxicité a été validé selon deux critères de qualité : 1) absence de toxicité significative des témoins négatifs, 2) toxicité conforme des témoins positifs, par rapport aux résultats précédemment obtenus avec le diuron (p. 177, tableau 6.2).

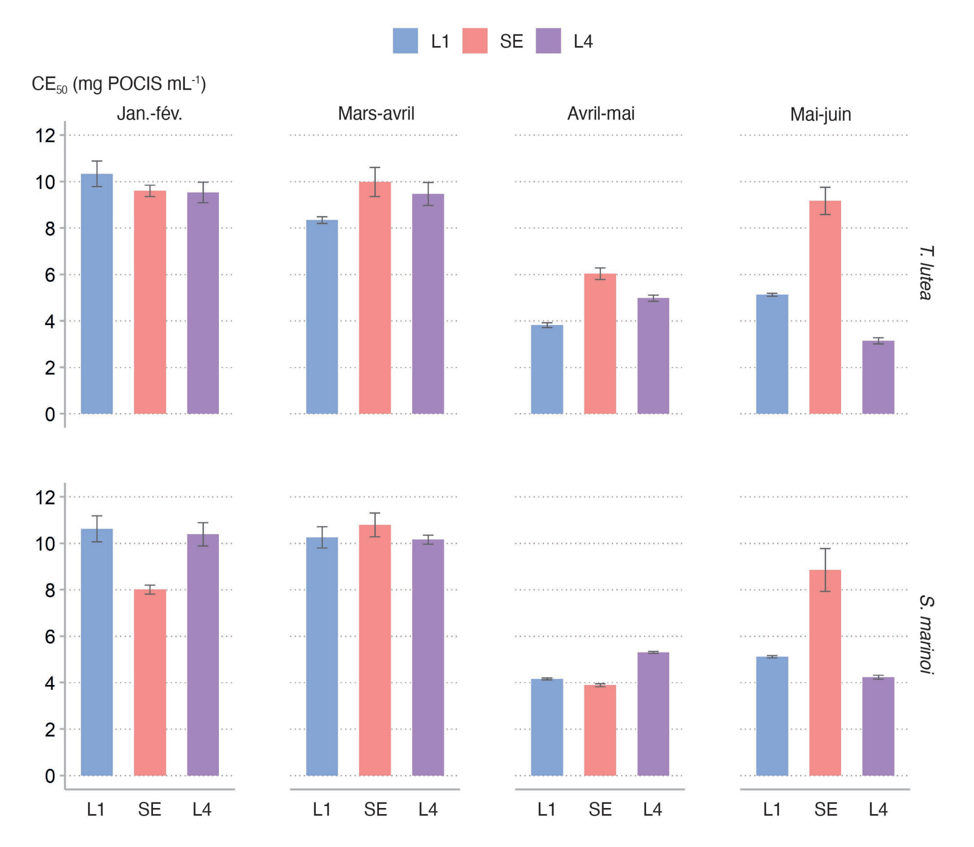


Figure 6.5. CE50 (valeur ± IC_{95} en mg POCIS mL^{-1}) des 12 extraits de POCIS pour les microalgues *T. lutea* (haut) et *S. marinoi* (bas). Les stations L1 et L4 sont situées sur la Livenne, en entrée et sortie du site d'étude, respectivement. Le site SE est situé à l'exutoire du ruisseau des Souches, lui-même situé entre les stations L1 et L4 (figure 5.8 p. 153).

La toxicité des extraits toutes stations confondues pour les deux premières périodes échantillonnées est relativement équivalente pour les deux espèces de microalgues, avec des CE50 situées entre 8 et 10 mg POCIS mL^{-1}. Cela signifie que les substances extraites de 8 à 10 mg de phase POCIS et diluées dans un millilitre de milieu de culture induisent une diminution de 50 % du taux de croissance des deux espèces de microalgues testées. Pour la période d'avril-mai, la toxicité observée augmente considérablement pour les deux microalgues, avec des CE50 qui diminuent et se situent entre 3 et 6 mg POCIS mL^{-1}, ce qui représente une toxicité deux à trois fois supérieure par rapport aux deux premières périodes. On notera une toxicité plus élevée pour *S. marinoi* par rapport à *T. lutea* pour l'extrait SE. Concernant la période mai-juin, la toxicité des extraits L1, et *a fortiori* SE, diminue, alors que la toxicité des extraits L4 augmente encore, avec des valeurs de CE50 situées autour de 5, 9 et 3,5-4, respectivement, pour les deux espèces de microalgues. Pour l'espèce *T. lutea*, c'est l'extrait L4 de mai-juin qui s'avère le

plus toxique, avec une CE50 de 3,15 ± 0,14 mg POCIS mL^{-1}. Pour *S. marinoi*, c'est l'extrait SE d'avril-mai avec une CE50 de 3,89 ± 0,07 mg POCIS mL^{-1}.

Si l'on se réfère aux enquêtes sur les usages déclarés de pesticides dans les bassins-versants, il peut être avancé que l'augmentation de toxicité constatée pour les périodes avril-mai et mai-juin est concomitante à une utilisation importante de fongicides (figure 6.6).

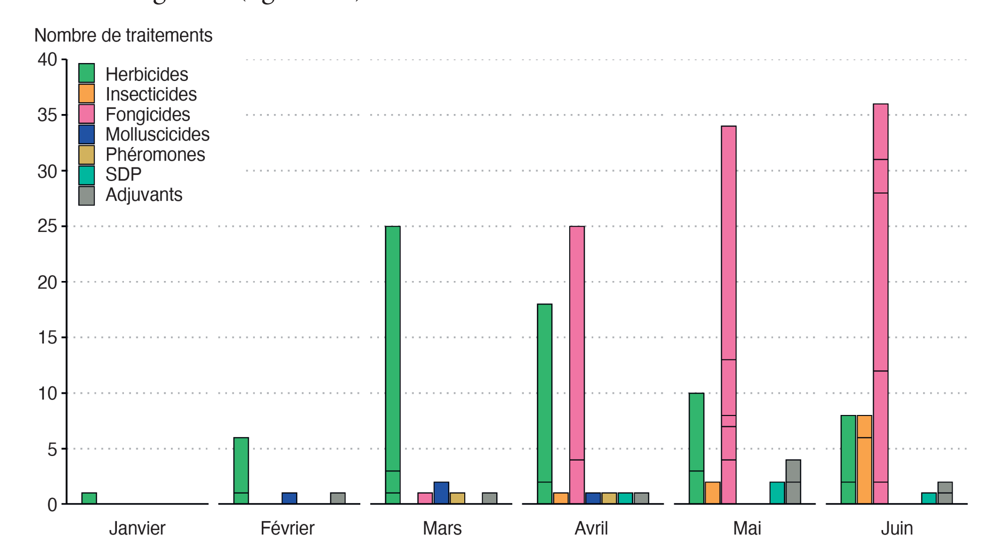


Figure 6.6. Nombre de traitements phytosanitaires par mois, classés par usage, recensés sur le site d'étude de janvier à juin 2017. Les barres cumulées par couleur représentent différentes substances. SDP : stimulateurs de défense des plantes. D'après les données Irstea-Bordeaux, N. Aouadi.

En effet, alors que ce sont en majorité des herbicides qui sont utilisés de janvier à mars, les fongicides sont ensuite majoritaires à partir d'avril. Il paraît donc sensé de faire l'hypothèse que les fongicides pourraient être en partie responsables de l'augmentation de toxicité constatée pour les extraits de POCIS des périodes avril-mai et mai-juin.

Pour vérifier cette hypothèse, une méthodologie a été mise en place dans le but d'identifier les substances expliquant la toxicité des extraits de POCIS.

Identification des substances contribuant à la toxicité des extraits de POCIS

La combinaison de l'échantillonnage passif avec un ou plusieurs test(s) de toxicité dans le but de réaliser la caractérisation toxicologique d'un mélange environnemental complexe n'en est encore qu'à ses débuts. Si de nombreuses méthodes ont permis de comparer les toxicités relatives de différents extraits, un nombre bien plus restreint est parvenu à identifier la ou les substance(s) responsable(s) de la toxicité observée.

Dans ce chapitre, deux approches sont décrites, faisant appel à des méthodes d'analyse chimique ciblées (ci-dessous) et non ciblées (p. 185) pour tenter d'identifier les substances responsables de la toxicité des extraits de POCIS. Les résultats obtenus avec les analyses ciblées sont présentés, tandis que l'analyse non ciblée est proposée comme une perspective du travail réalisé.

Identification ciblée de pesticides expliquant la toxicité des extraits

La méthodologie appliquée a été adaptée des travaux de Escher *et al.* (2006), reprise depuis par de nombreux auteurs.

Cette méthodologie nécessite de connaître : 1) les CE50 des extraits exprimés en masse de phase POCIS extraite par unité de volume ; 2) les CE50 des substances suspectées d'être responsables de la toxicité des extraits (déterminées de préférence dans des conditions expérimentales similaires à celles des tests de toxicité avec les extraits) ; 3) les concentrations de ces substances dans les extraits de POCIS (mesurées directement à partir de l'extrait pur).

Dans cette étude, les 8 pesticides[26] dont la CE50 a été précédemment calculée (p. 171, tableau 6.1, le chlorpyrifos-méthyl n'a pas été retenu) ont été quantifiés dans les extraits de POCIS (Dupraz, 2018).

La méthodologie proposée permet d'évaluer le pourcentage de toxicité des extraits de POCIS pouvant être attribué à chacun des 8 pesticides quantifiés, pour ainsi identifier la ou les substance(s) responsable(s) de la toxicité au sein d'un mélange complexe. Pour ce faire, la toxicité globale de chaque extrait est exprimée en équivalent-diuron, qui est notre substance modèle pour cette étude. La toxicité individuelle de chacun des pesticides analysés est également exprimée en équivalent-diuron en tenant compte de leur concentration mesurée et de leur valeur de CE50 (tableau 6.2). Par comparaison des valeurs de toxicité globales et individuelles, un pourcentage de toxicité expliqué est ainsi calculé pour chaque pesticide. Le pourcentage de toxicité d'origine inconnue correspond alors à la part restante de toxicité globale non expliquée par les 8 pesticides analysés. Les résultats sont présentés dans la figure 6.7.

Bien que le pourcentage de toxicité expliqué soit inférieur à 10 % pour les trois quarts des extraits, on observe qu'un fongicide, la spiroxamine, se démarque. À elle seule, cette molécule permet d'expliquer près de la moitié de la toxicité (46 %) de l'extrait L4 en mai-juin pour *T. lutea*, ainsi qu'une partie significative, de 16 à 30 %, pour les extraits SE. Pour *S. marinoi*, la part de toxicité expliquée par la spiroxamine est inférieure et se situe entre 4 et 8 % pour les extraits SE, et jusqu'à 17 % pour l'extrait L4 en mai-juin. La part expliquée par les 7 autres pesticides analysés (en jaune sur la figure 6.7) est négligeable pour les deux espèces de microalgues.

---

26. Diuron, isoproturon, métazachlore, S-métolachlore, azoxystrobine, krésoxim-méthyl, quinoxyfen et spiroxamine.

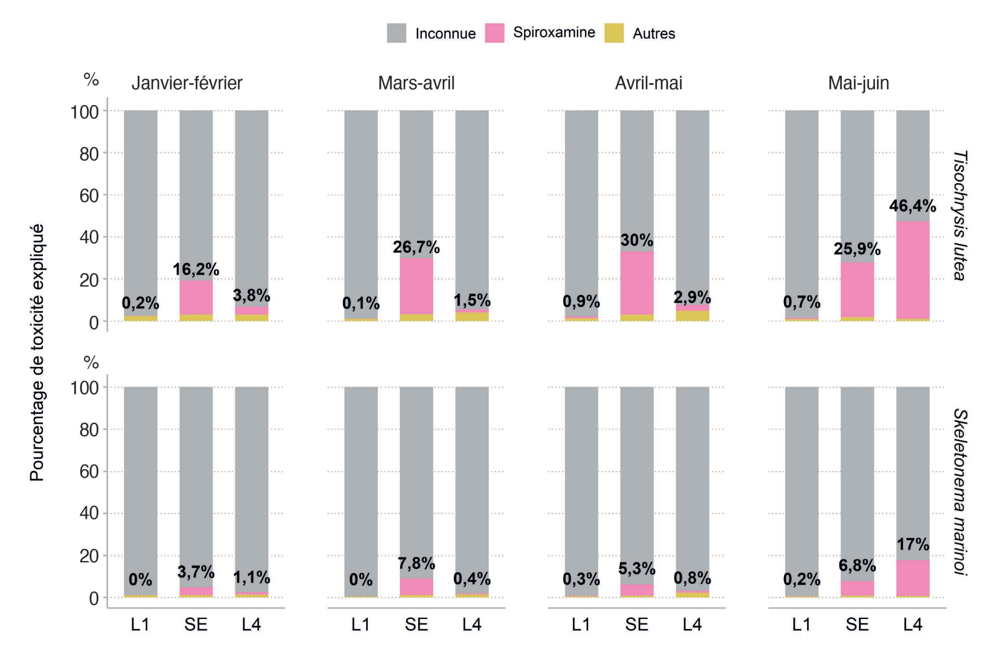


Figure 6.7. Pourcentages de toxicité des 12 extraits de POCIS expliqués par les 8 pesticides analysés. En gris, le pourcentage de toxicité dont l'origine est inconnue ; en rose, le pourcentage de toxicité expliqué par la spiroxamine seule ; en jaune, le pourcentage de toxicité expliqué par les 7 autres pesticides.

La différence importante constatée entre les deux espèces de microalgues en termes de toxicité expliquée tient principalement d'une toxicité inférieure de la spiroxamine pour l'espèce *S. marinoi* par rapport à *T. lutea*. En effet, les CE50 respectives de la spiroxamine pour ces deux espèces sont de 3,37 ± 0,74 µg · L^{-1} pour *T. lutea* et 12,4 ± 5,63 µg · L^{-1} pour *S. marinoi* (p. 177, tableau 6.2). Par conséquent, à concentration égale, la spiroxamine induira un effet toxique plus important pour *T. lutea* par rapport à *S. marinoi*. La spiroxamine étant la seule substance permettant d'expliquer en partie la toxicité des extraits de POCIS, il est logique que la toxicité des extraits soit mieux expliquée pour *T. lutea* que pour *S. marinoi*.

Si l'on analyse ces résultats de manière globale, on remarque qu'une majorité de la toxicité n'a pu être expliquée, notamment pour les stations L1 et L4. Cela implique que d'autres substances non-identifiées sont responsables de cette part de toxicité inconnue. Rappelons que les pesticides testés ont été choisis comme étant *a priori* les plus toxiques pour les deux espèces de microalgues parmi ceux utilisés sur le site d'étude. Nous pouvons formuler trois hypothèses qui pourraient permettre d'expliquer cette part de toxicité d'origine inconnue et d'identifier les substances qui pourraient en être responsables :

– premièrement, le principal critère retenu pour la sélection des pesticides étudiés était leur toxicité potentielle, relevée *via* des valeurs de CE50 tirées de bases de données ou directement de la littérature scientifique. Or, pour certaines substances,

il n'y avait aucune donnée disponible pour les deux espèces de microalgues testées. Par conséquent, il est possible que certains pesticides initialement répertoriés aient été écartés par notre processus de sélection alors qu'ils pourraient en réalité participer de manière significative à la toxicité des extraits ;
– ensuite, il se peut que certains pesticides utilisés sur le site d'étude n'aient pas été répertoriés lors des enquêtes et n'aient, de fait, pas été étudiés ni quantifiés. Dans tous les cas, il est évident, comme le montre la figure 5.9 (chapitre 5), que certains pesticides non autorisés, comme la simazine et le norflurazon, et d'autres autorisés pour un autre type de culture (comme le S-métolachlore autorisé sur les cultures de maïs en amont du site d'étude) étaient présents dans les cours d'eau échantillonnés. Ces substances ne remplissant pas les critères de sélection, ils n'ont pas non plus fait l'objet d'une évaluation de leur toxicité ou de leur concentration dans les extraits de POCIS ;
– enfin, une multitude de substances autres que des pesticides, par exemple les composés pharmaceutiques, sont susceptibles d'être échantillonnées par les POCIS. En effet, la Livenne reçoit les effluents de deux petites stations d'épuration de la commune et de la cave coopérative (STEP) situées à l'amont des stations L1 et L4, respectivement.

Pour conclure sur cette méthodologie d'identification ciblée, il apparaît que le résultat obtenu est fortement dépendant des substances choisies (c'est-à-dire dont la toxicité et la concentration dans les extraits testés ont été déterminées). En effet, moins l'extrait sera complexe et mieux sa composition sera connue, plus la proportion de toxicité expliquée par les substances quantifiées sera élevée et plus il sera facile d'identifier les substances incriminées. C'est notamment le cas de certains mélanges composés majoritairement d'herbicides ciblant le photosystème II (tel que le diuron) : leur mode d'action inhibant de manière très spécifique la photosynthèse chez les microalgues, il est relativement simple d'expliquer la toxicité d'un tel mélange si le paramètre de toxicité suivi est le rendement photosynthétique (Escher *et al.*, 2020). Pour les mélanges plus complexes composés de substances aux modes d'action toxique variés, comme c'est le cas pour les extraits de POCIS, la part de toxicité non expliquée est généralement majoritaire. En effet, dans de tels cas de figure, les analyses chimiques ciblées, même lorsqu'elles ciblent un très grand nombre de substances (> 200), constituent un point de blocage infranchissable. Les analyses chimiques non ciblées par spectrométrie de masse haute résolution constituent une alternative permettant de surmonter cet obstacle.

Identification non ciblée de composés : présentation de l'approche et perspectives

Le développement et l'accessibilité croissante de la spectrométrie de masse haute résolution ont ouvert la porte d'un tout autre univers de possibilités et de complexité chimique (Hollender *et al.*, 2017). Contrairement à l'analyse chimique ciblée, l'analyse non ciblée ne requiert pas d'établir à l'avance une liste des

composés que l'on souhaite rechercher. En effet, les spectromètres de masse haute résolution sont capables de détecter des dizaines de milliers d'entités chimiques (masses moléculaires précises associées à des substances inconnues) dans un seul échantillon environnemental (Schymanski *et al.*, 2015), dont certains sont identifiables, entre autres, grâce à des bases de données dédiées.

Le couplage des tests de toxicité à l'analyse non ciblée pour évaluer la toxicité d'un mélange donne accès à de nouvelles possibilités, notamment pour l'identification des substances responsables de la toxicité dans un extrait environnemental. Car les substances candidates pour expliquer la toxicité de l'extrait ne se limitent alors plus à une liste prédéfinie : elles représentent la totalité des entités chimiques détectées lors de l'analyse, soit plusieurs milliers, voire dizaines de milliers. Par conséquent, le traitement des données issues de ce type d'analyse requiert des outils bio-informatiques puissants qui s'inspirent fortement des méthodologies dites « *big-data* ». Par exemple, en comparant les empreintes moléculaires (ensemble des entités chimiques détectées) de différents extraits environnementaux dont la toxicité a été préalablement mesurée, il est possible d'établir des corrélations entre la toxicité des extraits et la présence de certaines entités. Ces entités d'intérêt représentent des candidates potentielles à l'explication de la toxicité des extraits. Il convient alors de les identifier, de les quantifier et de tester leur toxicité individuelle afin d'évaluer leur participation relative à la toxicité de l'extrait.

À l'heure actuelle, cette méthodologie, bien que très prometteuse, s'avère encore relativement fastidieuse à appliquer, pour plusieurs raisons. D'une part, l'intégralité des entités chimiques d'intérêt n'est pas référencée dans les bases de données pouvant permettre leur identification. D'autre part, pour de nombreux composés, *a fortiori* lorsqu'ils ne sont que peu ou pas connus, nous ne disposons d'aucune donnée concernant leur toxicité pour les organismes vivants. Pour remédier à cela, des solutions de criblage quantitatif haut débit ont été développées, permettant de tester la toxicité d'un grand nombre de composés en un laps de temps réduit (Attene-Ramos *et al.*, 2013). D'autres approches de criblage développées spécifiquement pour les microalgues et combinant la mesure des effets sur la croissance et le rendement photosynthétique ont également vu le jour (Glauch et Escher, 2020).

Le développement de telles approches permet aujourd'hui d'imaginer les perspectives quasi infinies du couplage entre spectrométrie de masse haute résolution, criblage quantitatif haut débit et outils bio-informatiques puissants pour le traitement de données. Une combinaison de ces technologies devrait permettre de révolutionner le suivi de la contamination des masses d'eau en permettant notamment d'évaluer précisément les effets des mélanges complexes tout en identifiant les substances à risque présentes dans ces mélanges.

À l'heure où il devient possible d'évaluer la toxicité potentielle de mélanges complexes de contaminants auxquels sont exposés les organismes vivants de manière chronique, il est urgent de modifier le paradigme réglementaire existant pour tenir compte des effets de mélange (Brack *et al.*, 2019b ; Kortenkamp et Faust, 2018).

Évolution de la surveillance

Depuis les années 1990, la surveillance des eaux a considérablement évolué. De quelques dizaines de substances, il est possible d'analyser actuellement plusieurs centaines de molécules organiques de synthèse. Mais les listes reposent sur des molécules ciblées figurant sur des listes réglementaires et les capacités analytiques des laboratoires.

L'évaluation de la qualité des eaux s'appuie sur des valeurs seuils, Normes de qualité environnementale (NQE) pour l'état chimique des eaux, ou des concentrations sans effet prévisible pour l'environnement (PNEC) pour la qualité biologique du milieu. Ces valeurs sont en réalité des évaluations de risque, prenant isolément chacune des substances. Les effets additionnels, synergiques, voire antagonistes des interactions possibles entre les molécules, ne sont donc pas encore appréhendés. Ils peuvent pourtant modifier profondément le diagnostic par rapport aux valeurs individuelles d'effets.

De plus les prélèvements sont des échantillons instantanés qui, même multipliés dans l'année, ne représentent qu'une fraction infime de ce qui peut se passer dans un cours d'eau, un lac ou un estuaire. De ce fait, une incertitude certaine entoure les résultats sur lesquels doivent se reposer les gestionnaires pour conduire le contrôle et la réduction des émissions. Les calculs de moyennes annuelles écrasent les quelques valeurs quantifiées, ce qui ne joue pas en faveur de la pertinence des diagnostics.

Actuellement, à la lumière de travaux académiques, une orientation nouvelle de cette surveillance se fait jour. Les échantillonneurs passifs intégrateurs enregistrent sur quelques semaines les concentrations de substances qui circulent dans les milieux aquatiques. Les bioessais, avec des batteries de tests, peuvent révéler le dysfonctionnement des mécanismes physiologiques et génétiques essentiels, et donnent une nouvelle image de l'impact des micropolluants. Les travaux de recherche explorent et développent des voies nouvelles et prometteuses pour de véritables évaluations. L'identification et la quantification des substances aux effets délétères sur le vivant aboutissent à des diagnostics précis et par là même concernent l'avenir des peuplements aquatiques.

Les gestionnaires se doivent de se saisir de ces évolutions remarquables en mettant les moyens nécessaires, humains et financiers pour relever le défi auquel les générations futures vont être confrontées. Nous avons les connaissances pour relever ce défi.

Témoignage de Xavier Bourrain, de l'Agence de l'eau Loire-Bretagne.

Conclusion et perspectives

Les travaux réalisés ont permis de démontrer la pertinence et la complémentarité du couplage entre la chimie environnementale et les tests en écotoxicologie prenant les microalgues pour modèles, dans le but d'évaluer la toxicité des substances pesticides utilisées sur un bassin-versant viticole. Le résultat phare apporté par cette stratégie a été la contribution majoritaire du fongicide spiroxamine à la toxicité des extraits environnementaux testés sur la microalgue *Tisochrysis lutea*, révélant la dangerosité potentielle de cette substance encore peu documentée au niveau écotoxicologique.

Il ressort de ces travaux que limiter la surveillance réglementaire de la qualité des masses d'eau (DCE & DCSMM) au respect des normes de qualité

environnementales (NQE) ou des concentrations prédites sans effet (PNEC) n'est pas suffisant pour évaluer la probabilité que les substances chimiques (dont les pesticides), présentes sous forme de mélanges complexes, affectent la qualité de l'eau.

L'utilisation d'échantillonneurs passifs associée avec un ou plusieurs tests de toxicité permet ainsi de coupler la détection de la qualité chimique d'une eau avec sa qualité biologique dans le sens où son potentiel toxique peut être estimé sur un ou plusieurs organismes cibles. Il devient alors possible d'évaluer la toxicité relative induite par ces mélanges complexes et d'identifier, du moins en partie, les substances qui en sont responsables. Cette approche présente également l'avantage d'être largement adaptable et modulable, compte tenu de la diversité d'échantillonneurs passifs disponibles permettant de cibler une très large gamme de contaminants, et de la multitude de tests de toxicité : les effets des substances peuvent être évalués sur des organismes représentatifs de plusieurs niveaux trophiques de l'écosystème considéré, et sur un panel de paramètres spécifiques de certains modes d'action toxiques. Ce couplage constitue la base de l'*effect-based monitoring* (EBM), que l'on pourrait traduire par « programme de surveillance basé sur les effets ».

Cette méthodologie a été proposée pour être intégrée dans la DCE, puisqu'elle permettrait de combler certaines lacunes, notamment vis-à-vis de l'évaluation de la toxicité des mélanges (Brack *et al.*, 2019a ; Union européenne, 2021 ; Wernersson *et al.*, 2015). Sa mise en place permettrait d'évaluer plus efficacement la pollution des masses d'eau par les pesticides, en identifiant notamment les substances les plus problématiques pour la santé des écosystèmes.

Références bibliographiques et numériques

Akcha F., Coquillé N., Sussarellu R., Rouxel J., Chouvelon T., Gonzalez P. *et al.*, 2022. Trophic transfer of copper decreases the condition index in *Crassostrea gigas* spat in concomitance with a change in the microalgal fatty acid profile and enhanced oyster energy demand. *Science of The Total Environment* 824, 153841. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.153841.

Arrhenius Å., Grönvall F., Scholze M., Backhaus T., Blanck H., 2004. Predictability of the mixture toxicity of 12 similarly acting congeneric inhibitors of photosystem II in marine periphyton and epipsammon communities. *Aquatic Toxicology* 68(4), 351-367. https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2004.04.002.

Arzul G., Quiniou F., Carrie C., 2006. *In vitro* test-based comparison of pesticide-induced sensitivity in marine and freshwater phytoplankton. *Toxicology Mechanisms and Methods* 16(8), 431-437. https://doi.org/10.1080/15376520600698717.

Attene-Ramos M.S., Miller N., Huang R., Michael S., Itkin M., Kavlock R.J. *et al.*, 2013. The Tox21 robotic platform for the assessment of environmental chemicals : from vision to reality. *Drug Discovery Today* 18(15-16), 716-723. https://doi.org/10.1016/j.drudis.2013.05.015.

Baas J., Willems J., Jager T., Kraak M.H.S., Vandenbrouck T., Kooijman S.A.L.M., 2009. Prediction of daphnid survival after *in situ* exposure to complex mixtures. *Environmental Science and Technology* 43(15), 6064-6069. https://doi.org/10.1021/es901083v.

Backhaus T., Faust M., 2010. *Hazard and risk assessment of chemical mixtures under Reach : state of the Art, gaps and options for improvement*. KemI, Swedish Chemicals Inspectorate, 75 p. http://www.thomasbackhaus.eu/wp-content/uploads/Backhaus-Faust-Blanck-Mixture-Report-to-KemI-Final.pdf.

Bao V.W.W., Leung K.M.Y., Qiu J.W., Lam M.H.W., 2011. Acute toxicities of five commonly used antifouling booster biocides to selected subtropical and cosmopolitan marine species. *Marine Pollution Bulletin* 62(5), 1147-1151. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2011.02.041.

Belden J.B., Gilliom R.J., Lydy M.J., 2007. How well can we predict the toxicity of pesticide mixtures to aquatic life ? *Integrated Environmental Assessment and Management* 3(3), 364-372.

Belles A., Pardon P., Budzinski H., 2014. Development of an adapted version of polar organic chemical integrative samplers (POCIS-Nylon). *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 406(4), 1099-1110. https://doi.org/10.1007/s00216-013-7286-2.

Booij P., Vethaak A.D., Leonards P.E.G., Sjollema S.B., Kool J., de Voogt P. *et al.*, 2014. Identification of photosynthesis inhibitors of pelagic marine algae using 96-well plate microfractionation for enhanced throughput in effect-directed analysis. *Environmental Science and Technology* 48(14), 8003-8011. https://doi.org/10.1021/es405428t.

Boxall A.B.A., Sinclair C.J., Fenner K., Kolpin D., Maund S.J., 2004. Peer reviewed : when synthetic chemicals degrade in the environment. *Environmental Science and Technology* 38(19), 368A-375A. https://doi.org./10.1021/es040624v.

Brack W., Aissa S.A., Backhaus T., Dulio V., Escher B.I., Faust M. *et al.*, 2019a. Effect-based methods are key. The European Collaborative Project SOLUTIONS recommends integrating effect-based methods for diagnosis and monitoring of water quality. *Environmental Sciences Europe* 31(1), 4-9. https://doi.org/10.1186/s12302-019-0192-2.

Brack W., Hollender J., de Alda M.L., Müller C., Schulze T., Schymanski E. *et al.*, 2019b. High-resolution mass spectrometry to complement monitoring and track emerging chemicals and pollution trends in European water resources. *Environmental Sciences Europe* 31(1). https://doi.org/10.1186/s12302-019-0230-0.

Cedergreen N., 2014. Quantifying synergy : a systematic review of mixture toxicity studies within environmental toxicology. *PLoS ONE* 9(5), e96580. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0096580.

Cedergreen N., Streibig J.C., 2005. The toxicity of herbicides to non-target aquatic plants and algae : assessment of predictive factors and hazard. *Pest Management Science* 61(12), 1152-1160. https://doi.org/10.1002/ps.1117.

Cruzeiro C., Rocha E., Rocha M.J., 2018. Pesticides in worldwide aquatic systems : part II. *In* Froneman W., *Estuary*. Rijeka (Croatie) : InTechOpen, 126 p.

D'Costa P.M., D'Silva M.S., Naik R.K., 2017. Impact of pollution on phytoplankton and implications for marine econiches. *In* Naik M.M., Dubey S.K., *Marine pollution and microbial remediation*. Singapour : Springer Singapour, 205-222.

DeLorenzo M.E., Scott G.I., Ross P.E., 2001. Toxicity of pesticides to aquatic microorganisms : a review. *Environmental Toxicology and Chemistry / SETAC* 20(1), 84-98. https://doi.org/10.1002/etc.5620200108.

Di Poi C., Costil K., Bouchart V., Halm-Lemeille M.P.P., 2018. Toxicity assessment of five emerging pollutants, alone and in binary or ternary mixtures, towards three aquatic organisms. *Environmental Science and Pollution Research* 25(7), 6122-6134. https://doi.org/10.1007/s11356-017-9306-9.

Dupraz V., 2018. *Étude de la toxicité de pesticides seuls et en mélanges sur des microalgues marines et la larve d'huître creuse : approche combinant des tests miniaturisés en laboratoire avec l'utilisation d'extraits d'échantillonneurs passifs de type POCIS*. Thèse de doctorat, université de Nantes/Ifremer, 427 p.

Dupraz V., Ménard D., Akcha F., Budzinski H., Stachowski-Haberkorn S., 2019a. Toxicity of binary mixtures of pesticides to the marine microalgae *Tisochrysis lutea* and *Skeletonema marinoi* : substance interactions and physiological impacts. *Aquatic Toxicology* 211, 148-162. https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2019.03.015.

Dupraz V., Stachowski-Haberkorn S., Wicquart J., Tapie N., Budzinski H., Akcha F., 2019b. Demonstrating the need for chemical exposure characterisation in a microplate test system : toxicity screening of sixteen pesticides on two marine microalgae. *Chemosphere* 221, 278-291. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.01.035.

Ebenezer V., Ki J.S., 2013. Quantification of toxic effects of the herbicide metolachlor on marine microalgae *Ditylum brightwellii* (Bacillariophyceae), *Prorocentrum minimum* (Dinophyceae), and *Tetraselmis suecica* (Chlorophyceae). *Journal of Microbiology* 51(1), 136-139. https://doi.org/10.1007/s12275-013-2114-0.

Escher B.I., Quayle P., Muller R., Schreiber U., Mueller J.F., 2006. Passive sampling of herbicides combined with effect analysis in algae using a novel high-throughput phytotoxicity assay (Maxi-Imaging-PAM). *Journal of Environmental Monitoring (JEM*) 8(4), 456-464. https://doi.org/10.1039/b517512g.

Escher B.I., Stapleton H.M., Schymanski E.L., 2020. Tracking complex mixtures of chemicals in our changing environment. *Science* 367(6476), 388-392. https://doi.org/10.1126/science.aay6636.

European Chemicals Agency, 2022. ECHA, https://echa.europa.eu/fr/home.

Faust M., Altenburger R., Backhaus T., Blanck H., Boedeker W., Gramatica P. *et al.*, 2001. Predicting the joint algal toxicity of multi-component s-triazine mixtures at low-effect concentrations of individual toxicants. *Aquatic Toxicology* 56(1), 13-32. https://doi.org/10.1016/s0166-445x(01)00187-4.

Faust M., Altenburger R., Backhaus T., Blanck H., Boedeker W., Gramatica P. *et al.*, 2003. Joint algal toxicity of 16 dissimilarly acting chemicals is predictable by the concept of independent action. *Aquatic Toxicology* 63(1), 43-63. https://doi.org/10.1016/s0166-445x(02)00133-9.

Field C.B., Behrenfeld M.J., Randerson J.T., Falkowski P., 1998. Primary production of the biosphere : integrating terrestrial and oceanic components. *Science* 281(5374), 237-240. https://doi.org/10.1126/science.281.5374.237.

Gauthier L., Tison-Rosebery J., Morin S., Mazzella N., 2020. Metabolome response to anthropogenic contamination on microalgae : a review. *Metabolomics* 16(1). https://doi.org/10.1007/s11306-019-1628-9.

Glauch L., Escher B.I., 2020. The combined algae test for the evaluation of mixture toxicity in environmental samples, *Environmental Toxicology and Chemistry* 39(12), 2496-2508. https://doi.org/10.1002/etc.4873.

Hollender J., Schymanski E.L., Singer H.P., Ferguson P.L., 2017. Nontarget screening with high resolution mass spectrometry in the environment : ready to go ? *Environmental Science and Technology* 51(20), 11505-11512. https://doi.org/10.1021/acs.est.7b02184.

Jones R.J., Kerswell A.P., 2003. Phytotoxicity of Photosystem II (PSII) herbicides to coral. *Marine Ecology Progress Series* 261, 149-159. https://doi.org/10.3354/meps261149.

Junghans M., Backhaus T., Faust M., Scholze M., Grimme L.H., 2006. Application and validation of approaches for the predictive hazard assessment of realistic pesticide mixtures. *Aquatic Toxicology* 76(2), 93-110. https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2005.10.001.

Kim Tiam S., Morin S., Pesce S., Feurtet-Mazel A., Moreira A., Gonzalez P. *et al.*, 2014. Environmental effects of realistic pesticide mixtures on natural biofilm communities with different exposure histories. *Science of the Total Environment* 473-474, 496-506. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.12.060.

Kortenkamp A., Backhaus T., Faust M., 2009. *State of the art report on mixture toxicity : final report*, 391 p. https://ec.europa.eu/environment/chemicals/effects/pdf/report_mixture_toxicity.pdf.

Kortenkamp A., Faust M., 2018. Regulate to reduce chemical mixture risk. *Science* 361(6399), 224-226. https://doi.org/10.1126/science.aat9219.

Lewis K.A., Tzilivakis J., Warner D.J., Green A., 2016. An international database for pesticide risk assessments and management. *Human and Ecological Risk Assessment : An International Journal* 22(4), 1050-1064. https://doi.org/10.1080/10807039.2015.1133242.

Malev O., Klobučar R.S., Fabbretti E., Trebše P., 2012. Comparative toxicity of imidacloprid and its transformation product 6-chloronicotinic acid to non-target aquatic organisms : microalgae *Desmodesmus subspicatus* and amphipod *Gammarus fossarum*. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 104(3), 178-186. https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2012.07.008.

Mohammad M., Kishimoto T., Itoh K., Suyama K., Yamamoto H., 2005. Comparative sensitivity of *Pseudokirchnetiella subcapitata vs. Lemna* sp. to eight sulfonylurea herbicides. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 75(5), 866-872. https://doi.org/10.1007/s00128-005-0830-9.

Muller-Feuga A., Moal J., Kaas R., 2003. The microalgae of aquaculture. *In* Støttrup J.G., McEvoy L.A., Bengtson D.A., *Live Feeds in Marine Aquaculture*. Oxford (UK) : Blackwell Science, 318 p, 206-252. https://doi.org/10.1002/9780470995143.ch6.

Munaron D., Tapie N., Budzinski H., Andral B., Gonzalez J.L., 2012. Pharmaceuticals, alkylphenols and pesticides in mediterranean coastal waters : results from a pilot survey using passive samplers. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 114, 82-92. https://doi.org/10.1016/j.ecss.2011.09.009.

Overmyer J.P., Rouse D.R., Avants J.K., Garrison A.W., DeLorenzo M.E., Chung K.W. *et al.*, 2007. Toxicity of fipronil and its enantiomers to marine and freshwater non-targets. *Journal of Environmental Science and Health, Part B* 42(5), 471-480. https://doi.org/10.1080/03601230701391823.

Rumschlag S.L., Casamatta D.A., Mahon M.B., Hoverman J.T., Raffel T.R., Carrick H.J. *et al.*, 2022. Pesticides alter ecosystem respiration *via* phytoplankton abundance and community structure : effects on the carbon cycle ? *Global Change Biology* 28(3), 1091-1102. https://doi.org/10.1111/gcb.15952.

Schymanski E.L., Singer H.P., Slobodnik J., Ipolyi I.M., Oswald P., Krauss M. *et al.*, 2015. Non-target screening with high-resolution mass spectrometry : critical review using a collaborative trial on water analysis. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 407(21), 6237-6255. https://doi.org/10.1007/s00216-015-8681-7.

Stenersen J., 2004. *Chemical pesticides : mode of action and toxicology*. New York : Boca Raton, CRC Press, 276 p.

Topaz T., Egozi R., Suari Y., Ben-Ari J., Sade T., Chefetz B. *et al.*, 2020. Environmental risk dynamics of pesticides toxicity in a mediterranean micro-estuary. *Environmental Pollution* 265(part B), 114-941. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.114941.

Union européenne (UE), 2021. *Technical proposal for effect-based monitoring and assessment under the water framework directive : report to the Common Implementation Strategy (CIS) Working Group Chemicals on the outcome of the work performed in the subgroup on Effect-Based Methods (EBM).* https://professionnels.ofb.fr/sites/default/files/pdf/Biosurveillance_OP/211013_EBM%20report_FINAL_WG_Chem_Oct_2021.pdf.

Vermeirssen E.L.M., Hollender J., Bramaz N., van der Voet J., Escher B.I., 2010. Linking toxicity in algal and bacterial assays with chemical analysis in passive samplers deployed in 21 treated sewage effluents. *Environmental Toxicology and Chemistry* 29(11), 2575-2582. https://doi.org/10.1002/etc.311.

Vonk J.A., Kraak M.H.S., 2020. Herbicide exposure and toxicity to aquatic primary producers. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology* 250, 119-171. https://doi.org/10.1007/398_2020_48.

Walters D.M., Jardine T.D., Cade B.S., Kidd K.A., Muir D.C.G., Leipzig-Scott P., 2016. Trophic magnification of organic chemicals : a global synthesis. *Environmental Science and Technology* 50(9), 4650-4658. https://doi.org/10.1021/acs.est.6b00201.

Wang Z.H., Nie X.P., Yue W.J., Li X., 2012. Physiological responses of three marine microalgae exposed to cypermethrin. *Environmental Toxicology* 27(10), 563-572. https://doi.org/10.1002/tox.20678.

Wernersson A.S., Carere M., Maggi C., Tusil P., Soldan P., James A. *et al.*, 2015. The European technical report on aquatic effect-based monitoring tools under the water framework directive, *Environmental Sciences Europe* 27(1). https://doi.org/10.1186/s12302-015-0039-4.

7

Stratégies de réduction des pesticides dans le cadre de la transition agroécologique

Francis Macary, Nawel Aouadi

Introduction et contexte

L'action publique, éclairée par de multiples rapports scientifiques depuis une vingtaine d'années (Aubertot *et al.*, 2005 ; Leenhardt *et al.*, 2022) et sous la pression sociétale croissante, développe de multiples programmes afin de réduire l'usage des pesticides en agriculture, particulièrement dans le secteur des cultures pérennes (vignes et vergers). Leur forte sensibilité aux divers pathogènes induit un nombre important de traitements phytosanitaires (cf. chapitre 1). Les politiques publiques en France encouragent désormais l'adaptation des systèmes viticoles dans le cadre de la transition agroécologique (MAAF, 2012 ; JORF, 2014 ; IFV et INAO, 2017). La Commission européenne vient tout récemment de déposer un projet de règlement visant à une réduction drastique de l'usage des pesticides au sein des États membres de l'Union. Mais la transition ne sera pleinement effective qu'avec la participation des principaux acteurs socioprofessionnels qu'il convient d'éclairer au mieux dans les choix et modalités des différentes alternatives possibles.

Ce chapitre évoquera d'abord les différentes actions publiques en cours, mises en œuvre en Europe et en France pour réduire l'usage des pesticides. Différents types de certifications agricoles et environnementales appliquées en viticulture seront abordés, ainsi que les freins potentiels aux changements de pratiques des viticulteurs et de leurs modes de conduite. Le dernier paragraphe présentera une illustration des performances environnementales et socio-économiques obtenues par différents scénarios de changement de pratiques et modes de production, notamment en agroécologie, suivant les résultats obtenus dans le cadre du projet de recherche PhytoCOTE dans le Bordelais.

Action des politiques publiques en faveur de la réduction des pesticides dans les pays producteurs du monde

Aux USA, dans l'État de Washington, des mesures ont été prises pour réduire l'usage des pesticides dans les vignes, notamment les insecticides, en privilégiant la restauration de l'habitat naturel, par la plantation de haies et de buissons favorisant l'implantation de différentes espèces capables d'attirer des insectes auxiliaires de la vigne, face aux prédateurs et divers parasitoïdes. Ces pratiques ont permis la prolifération des papillons non pathogènes dans les vignes, le développement d'une biodiversité favorable aux agroécosystèmes, une amélioration du revenu des viticulteurs, et elles ont favorisé la visite de nombreux citoyens qui arpentent ces vignobles. Ainsi, une trentaine d'espèces différentes de papillons ont été recensées, indicateurs d'un agroécosystème en bonne santé, *versus* une dizaine dans les vignobles conduits de façon conventionnelle (Chavetnoir, 2015).

Une volonté européenne de réduction de l'usage des pesticides

Dès 2006, l'Union européenne a mis en œuvre une réglementation pour contrôler les substances chimiques les plus dangereuses. Ainsi, le **règlement n° 1907/2006 « Reach »** (acronyme anglais pour : enregistrement, évaluation et autorisation des substances chimiques) (JOUE, 2006) a été mis en œuvre dans le but de recenser, d'évaluer et de contrôler les substances chimiques fabriquées, importées, mises sur le marché européen. L'objectif est de réduire l'usage des substances chimiques jugées dangereuses pour la santé humaine et pour l'environnement, à savoir les substances cancérigènes, mutagènes et toxiques pour la reproduction (CMR), persistantes, bioaccumulatives et toxiques (PBT), très persistantes et très bioaccumulatives (vPvB), ou des substances « suscitant un niveau de préoccupation équivalent ».

C'est le premier règlement qui pose le principe de « pas de données, pas de marché », imposant aux professionnels d'enregistrer leurs substances afin d'en décrire les risques potentiels en se basant sur un diagnostic. Cette réglementation a été à l'origine du retrait de nombreuses substances chimiques. Parmi les exemples les plus connus :

– la roténone, largement utilisée comme insecticide sur plusieurs cultures, notamment en agriculture biologique, a été interdite suite à la décision de la Commission européenne n° 2008/317/CE du 10 avril 2008 ;

– le mancozèbe, fongicide utilisé principalement pour la lutte contre le mildiou sur vigne, pomme, blé, etc., a été interdit suite à la décision des États membres de l'Union européenne du 23 octobre 2021.

Plus récemment, afin d'inscrire l'Union européenne dans la durabilité, l'adaptation au changement climatique et la neutralité carbone à l'horizon 2050, la Commission européenne a lancé le pacte vert (Green Deal) en fin 2019. Pour l'agriculture, deux programmes en découlent : Farm to Fork (de la ferme à la fourchette) et la stratégie Biodiversité (Union européenne, 2022). Les objectifs à l'horizon 2030 sont les suivants : -50 % de pesticides, -50 % d'antimicrobiens, -50 % de pertes de nutriments, 25 % de la SAU en agriculture biologique, 10 %

en infrastructures agroécologiques. Pour assumer ces défis, la Commission mise sur l'innovation et les nouvelles technologies. Deux propositions de règlement ont ainsi été déposées en juin 2022 (Lecocq, 2022).

La première proposition de règlement découle du programme **Farm to Fork** (Union européenne, 2022). Elle vise à la réduction de 50 % des usages et des risques liés aux pesticides en substitution à la directive 2009/128/CE. Le bilan établi par la Commission au niveau de l'Europe indique des progrès insuffisants pour l'usage de la lutte intégrée ou autres approches de substitution à la chimie conventionnelle contre les ravageurs. Il est reconnu que les pesticides ont contaminé l'air, l'eau, l'environnement, que, de ce fait, ils nuisent sérieusement à la santé humaine et contribuent fortement au déclin de la biodiversité.

De plus, l'usage des pesticides sera interdit dans les zones sensibles : espaces verts urbains, parcs et jardins publics, zones protégées Natura 2000 et toute zone écologiquement sensible à préserver (présence de pollinisateurs menacés). La commission entend favoriser la substitution des molécules chimiques par la lutte biologique et l'agriculture de précision, dont la pulvérisation ciblée sur les pathogènes.

Cette proposition de loi suggère une fourchette de réduction des pesticides comprise entre -35 % et -60 % suivant les pays et l'intensité des usages. Le Commission indique alors que « les États membres devront fixer leurs propres objectifs nationaux en fonction de paramètres définis afin de garantir la réalisation des objectifs à l'échelle de l'UE ».

Le processus de négociation au sein des États membres devrait demander environ deux ans de travail pour préciser dans les détails le règlement et ses modalités techniques. La Commission envisage d'adopter le cas échéant « de nouvelles règles de la politique agricole commune visant à garantir que les agriculteurs reçoivent une compensation pour tous les coûts liés à la mise en œuvre des nouvelles règles pendant une période de transition de cinq ans ».

Les productions pérennes : vignes et vergers sont très directement concernés par cette future loi, compte tenu des quantités importantes de pesticides utilisés.

La seconde proposition émane de la **stratégie Biodiversité** (Union européenne, 2022). Elle vise à « réparer les 80 % d'habitats européens qui sont en mauvais état et à ramener la nature dans tous les écosystèmes, depuis les forêts et les terres agricoles jusqu'aux écosystèmes marins, d'eau douce et urbains ». La commission souhaite ainsi couvrir 20 % des zones terrestres et marines de l'UE d'ici 2030 par des mesures de restauration de la nature. Elle souhaite étendre ces mesures à tous les écosystèmes qui doivent être restaurés, d'ici à 2050. Chaque État membre devra établir un Plan national de restauration. Cette nouvelle loi ne concerne pas seulement les zones protégées dans le cadre de la directive Habitats et Natura 2000 : elle couvre tous les écosystèmes naturels et semi-naturels. L'objectif visé est d'inverser notamment le déclin des populations de pollinisateurs d'ici 2030, d'accroître leurs populations et de façon générale d'améliorer toute la biodiversité des écosystèmes agricoles.

Quelles sont les démarches françaises visant à la réduction des pesticides ?

Une prise de conscience au moment du Grenelle de l'environnement

Le gouvernement français s'était saisi des questions environnementales à l'échelle nationale avec une méthode innovante et assez inédite en organisant en 2007 le Grenelle de l'environnement. Il s'agit d'un processus de concertations politiques comprenant une série de rencontres avec différents acteurs : associations environnementales, ONG, syndicats patronaux et salariés, syndicats professionnels dont agricoles, collectivités locales, État. De nombreuses thématiques ont fait l'objet d'un débat et d'une réflexion collective, parmi lesquelles : la biodiversité et les ressources naturelles, les relations entre l'environnement et la santé publique, la question de la « démocratie écologique » et la promotion de modes de développement.

Les lois dites Grenelle 1 et Grenelle 2 (JORF, 2009) signent les engagements du gouvernement vis-à-vis de l'environnement et le début de la marche vers la transition écologique et énergétique.

En agriculture, cette démarche s'est traduite par la promotion et le développement de l'agriculture biologique, par la mise en œuvre du plan Écophyto pour la réduction des pesticides, et par la mise en place de certifications environnementales (cf. p. 202), intégrant pour la plupart, la notion de la biodiversité.

Les plans Écophyto, dérivés du Grenelle de l'Environnement

Le plan national Écophyto est le programme de l'État français pour réduire l'usage des produits phytopharmaceutiques. La première version de ce plan Écophyto avait été initiée en 2008 (MAP, 2008) avec notamment pour objectif de réduire quantitativement de moitié l'usage des pesticides dans un délai de 10 ans. Eu égard à la non-atteinte de cet objectif, ce plan a évolué et a connu trois versions (Écophyto I, II et II+) depuis sa mise en place. L'objectif initial de diminution de 50 % de recours aux pesticides a été reporté à 2025 et un objectif intermédiaire avait été fixé pour une réduction de 20 % en 2020.

L'une des actions majeures de ce plan est la mise en place d'un **réseau national DEPHY**, ensemble de fermes expérimentales pour la mise en œuvre d'approches expérimentales de réduction de l'usage des pesticides. Son objectif est de générer et de mutualiser des données de référence sur les systèmes de culture économes en pesticides au sein du réseau, afin de pouvoir diffuser ces résultats aux exploitations agricoles sur les territoires :
– le réseau DEPHY EXE teste par expérimentations, la faisabilité de systèmes économe en pesticides et performants pour chaque filière de production ;
– le réseau DEPHY FERME, initié en 2010, réunit un ensemble de 3 000 agriculteurs engagés dans une démarche volontaire de réduction d'usage des produits phytosanitaires.

D'autres mesures ont contribué à faire évoluer les pratiques phytosanitaires :
– les **mesures agroenvironnementales et climatiques (MAEC)** : apparues en 2007 et modifiées en 2015 dans le cadre de la réforme de la PAC, les MAEC

constituent un des outils majeurs de la PAC et une mesure clé de la mise en œuvre du projet agroécologique pour la France. Les MAEC visent à répondre aux enjeux environnementaux rencontrés sur les territoires tels que la préservation de la qualité de l'eau, de la biodiversité, des sols ou la lutte contre le changement climatique. Il existe trois catégories de MAEC : les MAEC ressources génétiques, les MAEC systèmes et les MAEC localisées. Les mesures en viticulture concernent notamment la gestion de la fertilisation, la réduction des traitements phytosanitaires. Les MAEC ont pour principal objectif d'aider les agriculteurs à intégrer des pratiques respectueuses de l'environnement au sein de leurs exploitations à travers des contrats de 5 ans sur la base du volontariat. Le principe est de compenser le manque à gagner occasionné par la contractualisation de mesures respectueuses de l'environnement ;

– **le CERTIPHYTO** : le certificat individuel pour l'utilisation et l'achat des produits phytopharmaceutiques ou CERTIPHYTO (V2) est un dispositif qui découle du plan Écophyto. Il s'agit d'un document nominatif qui atteste de connaissances suffisantes pour utiliser les produits phytopharmaceutiques en sécurité et en réduire l'usage. Ce certificat a une validité de cinq ans. Il concerne tous les utilisateurs mais également les entreprises agréées de distribution, d'application ou de conseil à l'utilisation des pesticides ;

– **le contrôle du matériel de pulvérisation** : cette mesure obligatoire en France depuis le 1er janvier 2009 concerne tous les propriétaires (agriculteurs, CUMA, ETA, entreprises de travaux paysager, collectivités, etc.) de matériel de pulvérisation soumis à la réglementation. Cette mesure vise à optimiser l'utilisation des produits phytosanitaires et à limiter les pertes des produits phytosanitaires liés à la dérive ;

– des mesures plus récentes qui concernent la **séparation du conseil et de la vente** des produits phytopharmaceutiques. Selon l'ordonnance n° 2019-361 du 24 avril 2019 issue de la loi « Egalim » du 30 octobre 2018, cette loi vise à garantir l'indépendance du conseil délivré aux agriculteurs et à prévenir tout risque de conflit d'intérêts qui pourrait résulter de la coexistence chez un même opérateur d'activités de conseil et d'application, de vente ou de mise sur le marché de produits phytopharmaceutiques. Ces activités de conseil doivent contribuer à la réduction de l'utilisation, des risques et des impacts des produits phytopharmaceutiques, et respecter les principes de la protection intégrée des cultures (JORF, 2019).

Les données de ventes de pesticides (cf. chapitre 1) ne permettent pas de traduire correctement la tendance de réduction de la pression liée à l'usage des produits phytosanitaires, car elles ne tiennent pas compte du fait que les agriculteurs conventionnels en conversion vers l'agriculture biologique utilisent plus de cuivre ou de soufre, produits très pondéreux. De plus, ces données n'intègrent pas l'évolution de certains produits les plus écotoxiques et toxiques, dont les CMR, ni l'évolution des AMM (autorisations de mise sur le marché).

Certains résultats sont encourageants, comme le montrent les chiffres et indicateurs suivants, publiés sur le site web du ministère de la Transition écologique.

Chiffres clefs et indicateurs de suivi du plan de réduction des produits phytosanitaires

- La moyenne triennale des produits phytosanitaires, hors agriculture biologique et biocontrôle, poursuit sa baisse : - 9,1 % en 2018-2020 par rapport à 2009-2011, premier déroulé triennal du plan Écophyto ;
- Celle des produits utilisables en agriculture biologique et produits de biocontrôle en 2018-2019 progresse de 20 % par rapport à 2015-2017 ;
- La baisse des quantités de substances classées CMR1[27] au 1er janvier 2017 s'est fortement accentuée depuis 2018. En 2020, ces substances ont été réduites de 93 % par rapport de leur niveau de 2016 ;
- Entre 2019 et 2020, la proportion de substances actives classées CMR1 parmi l'ensemble des substances diminue sensiblement, passant de 3,8 % à 1,6 %, tandis que celle des substances actives classées CMR2[28] reste plutôt stable à 10,6 % ;
- 38 substances préoccupantes ont été retirées au niveau européen entre 2018 et 2019. La France a décidé unilatéralement le retrait du métam-sodium, de l'époxiconazole, et des néonicotinoïdes et apparentés ;
- 46 % d'augmentation du nombre d'exploitations engagées (soit 19 772) dans la certification environnementale (HVE) en 6 mois (entre le 1er janvier et le 1er juillet 2019) ;
- 13 % d'augmentation d'exploitations engagées en agriculture biologique entre 2017 et 2018 (soit 41 600 exploitations fin 2018) ;
- 30 % de baisse des quantités vendues de produits phytosanitaires à usages non agricoles entre 2017 et 2018, en lien direct avec l'évolution de la réglementation.

Si les résultats obtenus dans les fermes expérimentales DEPHY sont intéressants, leur diffusion sur les territoires semble limitée et en tout cas nettement insuffisante pour permettre d'atteindre la réduction attendue en termes de volumes des pesticides. De plus, pour les viticulteurs, l'aversion au risque phytosanitaire se traduisant par une perte quantitative et qualitative de récolte (cf. chapitre 1) est importante et la majorité d'entre eux ne peuvent engager des changements majeurs de pratiques qu'en étant bien encadrés et informés, et après validation de ces pratiques innovantes.

L'agroécologie et le projet national agroécologique

La première évocation de l'agroécologie dans la littérature scientifique date des années 1930 (Calame, 2016). En 1928, l'agronome américain d'origine russe Bensin évoquait l'agroécologie dans un article scientifique portant sur une approche de l'agronomie s'inspirant des acquis de l'écologie pour la production alimentaire, en prenant appui sur les contextes locaux plus que sur des solutions généralistes (Doré et Bellon, 2019). Depuis, de nombreux auteurs ont développé multiples concepts polysémiques (Deguine *et al.*, 2016). La période initiale (1930-1970) est surtout marquée par une approche scientifique. La deuxième période (1970-2010) a évolué de manière différenciée dans le temps et suivant les pays, pour devenir

27. CMR1 : substances dont le potentiel cancérigène pour l'être humain est avéré, dont la capacité d'induire des mutations héréditaires dans les cellules germinales humaines est avérée, dont la toxicité pour la reproduction humaine est avérée.

28. CMR2 : substances suspectées d'être cancérogènes pour l'homme, préoccupantes du fait qu'elles pourraient induire des mutations héréditaires dans les cellules germinales, suspectées d'être toxiques pour la reproduction humaine.

également un mouvement social (Altieri, 1995) et un ensemble de pratiques agricoles (Wezel *et al.*, 2009). Depuis les années 2010, l'agroécologie est considérée comme un modèle de production pouvant faire face aux enjeux de société. Ainsi, elle peut être à la fois présentée comme une discipline scientifique, un ensemble de méthodes et de pratiques pour la mise en œuvre des agroécosystèmes et comme un mouvement social. D'ailleurs, De Schutter (2010), rapporteur des Nations unies concernant le droit à l'alimentation, considère que l'agroécologie représente un modèle alternatif pouvant répondre aux crises économiques, sociales et écologiques en conciliant activités humaines et ressources planétaires.

En décembre 2012, Stéphane Le Foll, ministre de l'Agriculture, de l'Agroalimentaire et de la Forêt, lance en France le projet national agroécologique. Ce projet vise à faire évoluer les systèmes de production pour concilier la performance économique, sociale et environnementale (Le Foll, 2017). Les systèmes de production sont alors multiperformants. De façon générale, l'agroécologie est alors définie comme une approche globale et systémique qui vise à replacer l'agronomie au cœur des pratiques agricoles. Le principe est de repenser les systèmes agricoles en combinant de façon cohérente et synergique plusieurs pratiques optimisées avec des ressources et des mécanismes offerts par la nature. L'agroécologie doit être ancrée dans une dynamique territoriale. Le système de production est à prendre, dans son ensemble, en lien avec les paysages qu'il contribue à façonner et le territoire dans lequel il évolue.

La loi d'avenir pour l'agriculture, l'alimentation et la forêt de 2014 en définit les objectifs (JORF, 2014) et place les systèmes innovants faisant référence à l'agroécologie au cœur du dispositif : « L'État encourage le recours par les agriculteurs à des pratiques et à des systèmes de cultures innovants dans une démarche agroécologique. À ce titre, il soutient les acteurs professionnels dans le développement des solutions de biocontrôle et veille à ce que les processus d'évaluation et d'autorisation de mise sur le marché de ces produits soient accélérés. »

La mise en œuvre de ce projet nécessite l'engagement de tous les acteurs des filières agricoles et des agriculteurs en premier lieu. Elle repose sur la mise en place au niveau local de projets agroécologiques impliquant les agriculteurs pour les accompagner dans leur démarche de changement de pratiques. Outre les groupes DEPHY, plusieurs collectifs œuvrent en faveur de l'agroécologie :
– les groupes 30 000 représentent des collectifs travaillant sur la diffusion des pratiques économes en pesticides ;
– les Groupements d'intérêt économique et environnemental (GIEE) sont des collectifs d'agriculteurs qui s'engagent dans un projet pluriannuel de changements de pratiques. La réflexion sur la mise en place de nouvelles pratiques est alors menée de façon collective, à l'échelle d'un territoire, dans des contextes de production différents prenant en compte les spécificités du milieu pédoclimatique et le contexte économique.

La dimension du système d'exploitation est essentielle car elle permet de prendre en considération la synergie entre les pratiques, leur complémentarité, mais aussi les antagonismes aux niveaux des performances que peuvent générer certaines stratégies de gestion.

Les dimensions du paysage et du territoire sont également à intégrer dans la réflexion sur les systèmes multiperformants car chaque exploitation est ancrée dans son territoire : elle interagit avec le paysage dans laquelle elle évolue et que l'agriculteur contribue à façonner. Elle permet d'intégrer la biodiversité généralement dépendante du paysage, notamment en ce qui concerne les espèces animales dont les déplacements se font grâce à des continuités écologiques à travers les territoires.

Christian Gary et ses collègues (Gary *et al.*, 2017) ont mis en évidence tout l'intérêt du développement des vignobles agroécologiques alliant innovations de gestion et aménagement du territoire à l'échelle des parcelles, des exploitations et des paysages. La figure 7.1 présente une approche holistique de la démarche agroécologique pour la filière viticole. La figure 7.2 illustre une approche paysagère au sein d'un territoire viticole.

En France, l'INAO (Institut national de l'origine et de la qualité) et l'IFV (Institut français de la vigne et du vin) ont proposé en 2017 une liste des bonnes pratiques agroécologiques en viticulture dans un guide pour l'agroécologie en viticulture (IFV et INAO, 2017 ; Lempereur *et al.*, 2017), complété en 2022 par des mesures en vue de réduire les émissions de polluants atmosphériques, l'empreinte carbone ainsi que l'atténuation des effets du changement climatique et l'adaptation (IFV, 2022a). Certaines relèvent de propositions explicitées dans le cadre du guide de conception de systèmes de production en viticulture afin de réduire les apports et impacts de pesticides (Barbier *et al.*, 2011).

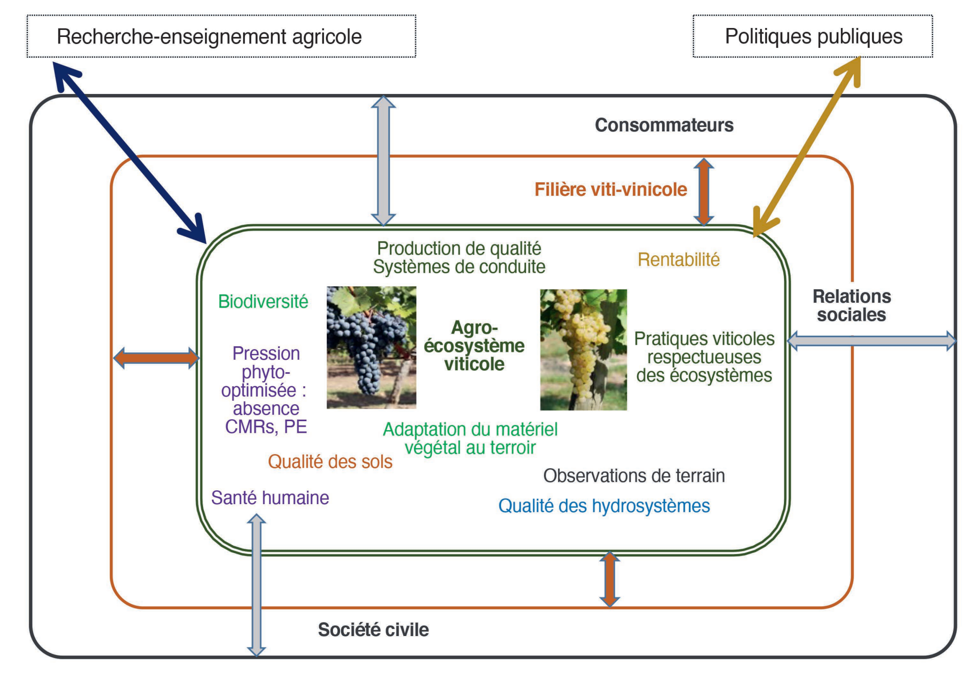


Figure 7.1. Schéma de synthèse de la démarche agroécologique en viticulture (© Macary).



Figure 7.2. Illustration d'un paysage d'agroécologie viticole type (IFV et INAO, 2017).

Plusieurs auteurs présentent des travaux conduits dans différents pays viticoles dans le monde en matière de préservation et développement de la biodiversité (figure 7.3), de réduction des pesticides par une régulation des bioagresseurs et techniques alternatives de biocontrôle, concernant la conservation de la qualité des sols et leur nutrition, ou encore l'adaptation du vignoble au changement climatique (Macary *et al.*, 2020).



Figure 7.3. Biodiversité végétale dans le vignoble (© Macary).

Le plan national de relance

En septembre 2020, le gouvernement français lançait le plan national de relance avec pour objectif de redresser l'économie du pays. Pour l'agriculture, ce plan s'adresse aux agriculteurs, aux collectivités et aux acteurs économiques avec des mesures pour reconquérir la souveraineté alimentaire, accélérer la transition agroécologique et accompagner les agriculteurs dans l'adaptation aux changements climatiques. Les aides et subventions ciblent le renouvellement des agroéquipements concernant le travail du sol, l'adaptation au changement climatique, et encouragent la plantation de haies afin de développer la biodiversité et de créer des habitats favorables aux auxiliaires des cultures.

D'autres régimes d'aides plus spécifiques visent à soutenir certaines pratiques, notamment l'engagement des agriculteurs vers la certification Haute Valeur environnementale (HVE), celles qui s'orientent vers l'arrêt de l'utilisation du glyphosate, massivement employé pour désherber les adventices sur les rangs de vigne, et celles incitant à la viticulture biologique.

Certification environnementale, labels, viticulture biologique

Les différents modes de production abordés au chapitre 1 conduisent à de multiples certifications et labels.

Certifications environnementales

Cette approche vise à limiter l'impact de l'activité agricole sur l'environnement, notamment en matière de protection phytosanitaire des plantes, par un raisonnement de l'usage des intrants suivant les besoins au moment de l'intervention. Les produits phytopharmaceutiques organiques de synthèse ne sont pas interdits, mais leur usage est restreint et adapté aux conditions météorologiques, avertissements agricoles, observations de terrain et piégeage des insectes pathogènes. Les traitements ne sont pas forcément effectués en prévention, mais suivant les besoins, pour être plus efficaces. En fonction du niveau de certification obtenu par le viticulteur, certains produits organiques de synthèse, dont les CMRs, sont interdits.

La certification environnementale du ministère de l'Agriculture

La certification environnementale en France, émanation de la loi d'avenir agricole de 2014, est une reconnaissance de l'engagement des exploitations agricoles dans des démarches respectueuses de l'environnement. Elle concerne l'ensemble de l'exploitation agricole, pas seulement le volet viticole. Il s'agit d'un dispositif progressif à trois niveaux :

Le **niveau 1** (niveau de connaissances) vise à s'assurer que l'agriculteur maîtrise les bases réglementaires relatives à l'environnement, notamment celles concernées par la conditionnalité des aides de la Politique agricole commune (PAC), qui se structure autour de trois domaines : l'environnement, la santé des végétaux et

les bonnes conditions agricoles et environnementales (BCAE), lesquelles comprennent 7 mesures :
– la préservation des bandes tampons le long des cours d'eau ;
– la maîtrise des prélèvements pour l'irrigation ;
– la protection des eaux souterraines contre la pollution causée par des substances dangereuses ;
– la couverture minimale des sols ;
– la limitation de l'érosion ;
– le maintien de la matière organique des sols, voire son enrichissement ;
– le maintien des particularités topographiques, comme les talus…

Le **niveau 2** (obligations de moyens) exige le respect de 16 grandes exigences pour toutes les filières, réparties en quatre thématiques : la biodiversité, la stratégie phytosanitaire, la fertilisation et la gestion de la ressource en eau. Certaines certifications privées peuvent bénéficier de l'équivalence du niveau 2 (Terra Vitis, Viticulture durable en Champagne…).

Le **niveau 3** (obligations de moyens et de résultats) correspond à la certification Haute Valeur environnementale. Deux options sont possibles pour l'acquérir.

L'option A (approche thématique) se base sur le calcul d'indicateurs de performances de l'exploitation sur 4 items : la biodiversité, la stratégie phytosanitaire, la fertilisation et l'irrigation. 10 points au minimum sont nécessaires par thématiques pour obtenir la certification.

Exemple de 8 items pour la thématique phytosanitaire :
– pourcentage de la SAU non traitée (10 points possibles) ;
– indicateur de fréquence des traitements inférieur à la moyenne régionale (5 points) ;
– utilisation de méthodes alternatives à la lutte chimique (3 points) ;
– pourcentage de la SAU engagée dans une MAE phytosanitaire (10 points) ;
– conditions d'application des traitements visant à limiter les fuites (2 points) ;
– diversité spécifique et variétale : « nombre de clones » (2 points) ;
– enherbement de l'inter-rang (3 points) ;
– recyclage et traitement des eaux (10 points).

L'option B (approche globale) s'appuie sur le respect de 2 indicateurs : la surface de SAU en infrastructures agroécologiques ou en prairies permanentes et le poids des intrants dans le chiffre d'affaires.



Logo Haute Valeur environnementale (HVE)

Le référentiel de la certification Haute Valeur environnementale fait actuellement l'objet d'une révision par le ministère de l'Agriculture. Parmi les propositions d'évolution : la suppression de l'option B, le durcissement des exigences

phytosanitaires (avec notamment l'interdiction des produits classés CMR), ainsi que la prise en compte des références régionales dans le calcul des IFT.

Autres types de certification sur émanation de professionnels ou établissements publics en production raisonnée

Il existe de multiples certifications spécifiques ou non de la viticulture, par exemple Terra Vitis.

Terra Vitis



Logo Terra Vitis

Terra Vitis est une certification collective privée qui ne concerne que le volet viticole d'une exploitation agricole. À l'origine développée sur les principes de l'agriculture raisonnée, elle est désormais assise sur les trois principes du développement durable : engagement environnemental, responsabilité sociétale et durabilité économique.

Son cahier des charges à déclinaison régionale est évolutif. Il comporte 80 points d'exigences à respecter autour de 9 thématiques, parmi lesquelles : la stratégie de gestion phytosanitaire, la gestion durable de la fertilité et de la vie dans le sol, la préservation de la biodiversité, la gestion des déchets, la sécurité au travail…

Quelques exemples d'engagement concernant les traitements phytosanitaires :
– interdiction d'usage des molécules CMR1 ;
– limitation de certaines molécules telles les pyréthrinoïdes ;
– traitements insecticides déclenchés si seuil de nuisibilité est dépassé ;
– désherbage en plein interdit, y compris en automne/hiver.

Le respect de ces exigences est contrôlé annuellement, soit par l'association Terra Vitis locale, soit par un organisme indépendant agréé.

Viticulture durable en Champagne



Logo Viticulture durable en Champagne

Le référentiel Viticulture durable du comité Champagne a été créé en 2001 et mis à jour en janvier 2020. Il comprend 99 points et est structuré en 3 étapes :
– le respect de la réglementation ;
– les exigences de la Haute Valeur environnementale (HVE) suivant trois thématiques : la stratégie phytosanitaire, la gestion de la fertilisation et la préservation de la biodiversité ;

– la préservation des terroirs de la Champagne et la mise en valeur des paysages, la gestion responsable des déchets et sous-produits, la réduction de l'empreinte carbone.

Vignerons engagés



Logo Vignerons engagés

Cette démarche a été portée en 2006 par le groupe ICV (Institut coopératif du vin) dans le Sud de la France. Le cahier des charges comprend des critères économiques, environnementaux et sociaux de la durabilité. Le logo de la marque Vignerons engagés est inséré sur les bouteilles. L'association comprend des adhérents en caves coopératives et particulières.

Bee Friendly



Logo Bee Friendly

Le label Bee Friendly a été créé en 2014 à partir de la réunion de syndicats apicoles au niveau européen. Il a la particularité de signaler des produits issus d'une agriculture respectueuse des insectes pollinisateurs, des abeilles en particulier. Il n'est pas spécifique à la viticulture, mais un vin Bee Friendly est un vin élaboré avec des raisins sans produits nuisibles aux insectes pollinisateurs.

Le SME



Logo Système de management environnemental (SME)

Le SME a été développé dès 2010. Il représente une démarche environnementale collective de tout un territoire. Il s'adresse à toutes les entreprises de la filière des vins de Bordeaux, quels que soient leur structure (châteaux, maisons de négoce, caves coopératives), leur mode de production (agriculture raisonnée, biologique ou biodynamique), leur taille, leur sensibilité ou leurs avancées en matière environnementale. Il s'appuie sur le respect du référentiel de la norme ISO 14001[29] et de la réglementation française.

29. La norme ISO 14001 définit les critères d'un système de management environnemental.

La viticulture biologique

La viticulture biologique est en progression constante et assez fortement accentuée depuis 2017 en France (figure 7.4). Le vignoble conduit en bio (vignes en conversion et certifiées) représente 20 % du vignoble national en 2021, soit 159 863 ha et 11 335 exploitations (Agence Bio, 2021). Sur un plan commercial, 58 % du vin bio ont été commercialisés en France, 42 % exportés, soit en valeur 62 % des ventes en France, 38 % à l'export (Agence Bio, 2019).

La France est devenue un des pays leader mondial de la viticulture en bio, avec l'Espagne et l'Italie. Les pays les plus consommateurs de ce type de vin sont l'Allemagne, puis la France, le Royaume-Uni et enfin les États-Unis.

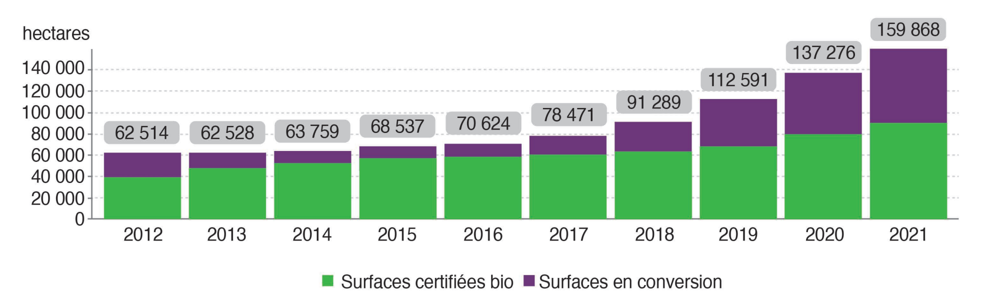


Figure 7.4. Évolution des surfaces en vigne bio en France (d'après Agence Bio, 2021).

L'augmentation constante des volumes de vins bio en France traduit une attente des consommateurs à l'égard d'une production qu'ils jugent plus respectueuse de l'environnement et de la santé humaine (Rayneau, 2018). Près de 350 000 ha de vignes étaient cultivées en bio dans l'UE en 2018, soit 11 % de l'ensemble des vignes, dont 33 % en Espagne, 31 % en Italie et 27 % en France (Agence Bio, 2019).

Depuis 2012, les viticulteurs bio peuvent apposer sur leur étiquette la certification « vin biologique ». Pour les viticulteurs conventionnels qui souhaitent s'orienter vers un mode de production biologique et bénéficier du label AB, une période de conversion du vignoble de 3 ans est requise au cours de laquelle les techniques utilisées doivent être effectuées suivant le cahier des charges AB, avec un contrôle annuel par un organisme certificateur.

L'agriculture biologique



Logo Agriculture biologique (AB)

L'agriculture biologique tend à respecter les équilibres biologiques au niveau de la végétation et du sol afin que celui-ci puisse demeurer un milieu vivant. Elle rejette tous les intrants de synthèse (fertilisants, produits phytosanitaires). La protection sanitaire est effectuée en prévention avec une liste restreinte de produits phytosanitaires non issus de la chimie de synthèse, à base de cuivre (contre le mildiou, le black-rot) et de soufre

(contre l'oïdium), ainsi que certains produits de biocontrôle, PNPP (préparations naturelles peu préoccupantes) et substances de base (cf. chapitre 1, p. 34). La gestion des adventices est faite mécaniquement, les herbicides étant tous interdits.

C'est un signe de qualité européen depuis, définissant les règles de production, de transformation ou d'étiquetage des produits. La France a été le premier pays à définir une réglementation.

L'enjeu majeur de la production AB réside actuellement dans l'avenir réglementaire pour l'usage du cuivre. Une dérogation de la Commission européenne existe jusqu'en 2025 pour un usage maximal de 28 kg par hectare sur une période de 7 ans, soit en moyenne 4 kg par ha/an. Mais pour le moment, il n'existe pas de substitut d'origine naturelle permettant de lutter efficacement contre le mildiou.

La viticulture biodynamique

Grâce notamment à leur climat sec, où la menace de maladies cryptogamiques est moindre, certaines régions viticoles dans le monde bénéficient de conditions plus favorables et propices aux viticultures biologique et biodynamique. C'est notamment le cas de l'Afrique du Sud, de l'Argentine, du Chili et des régions viticoles du sud de l'Europe.

La viticulture biodynamique



Logo Demeter



BIODYVIN

Logo Biodyvin

La viticulture biodynamique est fondée sur les travaux de Rudolf Steiner (1861-1925), un philosophe autrichien, et de Maria Thun (1922-2012), une pionnière allemande de l'agriculture biodynamique. Aux principes biologiques de l'agriculture biologique s'ajoute une approche philosophique et cosmique. Les pratiques viticoles sont alors considérées sous l'influence du cycle des planètes, lunes et étoiles. La biodynamie autorise encore moins de pratiques et produits que l'agriculture biologique. Des préparations homéopathiques sont utilisées pour fertiliser le sol afin de le rendre plus vivant, et pour traiter les parasites et les maladies. Ces pratiques sont certifiées par des marques collectives comme Demeter ou Biodyvin qui délivrent le label correspondant.

En France, le changement climatique peut modifier les risques phytosanitaires dans les régions : augmentation de la pression de l'oïdium en Bourgogne, Champagne ou Alsace, augmentation de la virulence du mildiou en région méditerranéenne les années favorables.

Perspectives en vue de la réduction de l'usage des pesticides

La réduction de la pression des usages de pesticides de façon générale et en viticulture est un enjeu majeur qui mobilise de nombreux programmes de recherche depuis plus d'une décennie, afin de proposer et évaluer des méthodes alternatives et des solutions de rupture. Certaines solutions ci-après développées sont fonctionnelles, d'autres expérimentales et une troisième catégorie encore au stade de la recherche. Ce paragraphe présente un panorama des différentes approches spécifiques à la viticulture, suivant les différentes phases opérationnelles précitées.

Quid de la génétique : quelles perspectives pour de nouveaux cépages résistants ?

Avec l'augmentation de la pression sociétale, l'intérêt pour des variétés résistantes, issues de croisement entre *Vitis vinifera* et d'autres *Vitis* s'est accru au cours des dix dernières années.

Lors de la replantation des vignobles en Europe, quasiment détruits par le phylloxéra à la fin du XIXe siècle (cf. p. 20), les professionnels de la viticulture avaient opté pour le greffage de cépages traditionnels sur des porte-greffes dont les racines étaient résistantes au puceron. Ces porte-greffes provenaient de sélections de *Vitis* américains ou d'hybrides issus de croisements entre plusieurs espèces américaines résistantes. Les parties aériennes étaient protégées contre les maladies fongiques par le cuivre et le soufre. De ce fait, la recherche en génétique était peu développée. Néanmoins quelques viticulteurs et sélectionneurs tentèrent de créer des variétés dont le système racinaire tolérait le phylloxéra et dont les parties végétatives aériennes résistaient aux attaques de mildiou et d'oïdium. Ces obtentions appelées « hybrides producteurs directs » se développèrent fortement durant la première moitié du XXe siècle et représentaient à la fin des années 1950 près d'un tiers du vignoble français, soit 380 000 ha alors (Pelsy et Merdinoglu, 2021). Mais leur faible qualité organoleptique a été considérée comme une menace pour la typicité des vins, en particulier celle des AOC dont les cahiers des charges reposent sur des cépages de *Vitis vinifera* adaptés aux terroirs. La réglementation communautaire et nationale les a alors déclassés, à quelques exceptions près (par exemple le Baco 22A, utilisé en Armagnac pour produire du vin de distillation).

Ainsi, le recours aux pesticides inorganiques puis organiques de synthèse s'est imposé pour la protection phytosanitaire des vignobles, avec des excès bien connus de nos jours et leurs conséquences sur les écosystèmes et la santé humaine.

En 2017, une douzaine de variétés allemandes, suisses ou italiennes, issues de croisements avec les anciens hybrides producteurs directs et des *Vitis vinifera*, ont été classées en France, complétant la vingtaine de variétés résistantes historiques déjà classées depuis l'origine.

La création variétale n'a été relancée en France par l'INRA (INRAE aujourd'hui) que dans les années 1970, sous l'influence d'Alain Bouquet, à partir de l'espèce

Muscadinia rotundifolia. Ce matériel végétal constitue la base du programme INRA-ResDur engagé depuis les années 2000. L'objectif était d'obtenir des variétés résistantes à la fois au mildiou et à l'oïdium et d'éviter le contournement des gènes de résistance par les champignons grâce à des résistances polygéniques ; mais aussi de produire des vins de qualité de façon à pouvoir les introduire dans les vins AOP lors des assemblages. Ce schéma de sélection mené sur une quinzaine d'années, a fait intervenir trois espèces naturelles résistantes au mildiou et à l'oïdium, *Muscadinia rotundifolia*, une autre *Vitis* d'origine américaine et *Vitis amurensis*, d'origine asiatique (Merdinoglu, 2018).



Figure 7.5. Les quatre variétés résistantes au mildiou et à l'oïdium inscrites en 2018 (© Christophe Schneider) : deux raisins noirs, Artaban et Vidoc, et deux raisins blancs, Floréal et Voltis.

Ce programme a permis l'inscription en 2018 des quatre premières variétés polygéniques de vigne au catalogue officiel des espèces et variétés de plantes cultivées en France, dont deux raisins noirs, Artaban et Vidoc, et deux raisins blancs, Floréal et Voltis (figure 7.5). D'autres ont été inscrites en 2021, de façon définitive ou temporaire (ce qui permet de planter des parcelles expérimentales). Ces variétés possèdent deux gènes de résistance au mildiou et deux gènes de résistance à l'oïdium. La plupart des régions françaises ont lancé des programmes de création variétale, pour obtenir des variétés possédant une typicité régionale. Des variétés créées par des obtenteurs allemands, suisses et italiens sont également inscrites au catalogue officiel et de ce fait peuvent être plantées dans l'Union européenne.

Actuellement une quarantaine de cépages résistants font l'objet d'un classement permettant leur vinification (tableau 7.1).

Tableau 7.1. Nouvelles variétés de vigne inscrites au catalogue officiel depuis 2018 (d'après INRAE et IFV, 2022).

Origine	Variétés inscrites	Statut du classement
France	9 INRAE-ResDur1 (Artaban, Floréal, Vidoc, Voltis, Coliris, Lilaro, Opalor, Sirano et Selenor)	Définitif
	2 INRAE-Bouquet (Coutia et Luminan)	Définitif
	11 INRAE-Bouquet	Temporaire
	2 INRAE-ResDur2	Temporaire
Allemagne	Muscaris, Souvignier gris, Monarch, Prior, Bronner, Johanniter, Solaris, Saphira, Cabernet Cortis	Définitif
Suisse	Cabernet blanc, Pinotin, Sauvignac	Définitif
Italie	Soreli	Définitif
	Fleurtai	Définitif
	UD-31.125 N	Temporaire

Mais l'implantation de ces nouvelles variétés soulève plusieurs questions au niveau des exploitations viticoles, de la filière et des territoires (Delière, 2018). La première concerne leur potentiel qualitatif et leur valorisation. Des projets de recherche sont en cours pour évaluer les caractéristiques organoleptiques des vins produits, les itinéraires optimums de vinification, les modes de valorisation adaptés. La seconde question porte sur la gestion de la durabilité des résistances. Plusieurs cas d'apparition de résistances au mildiou et à l'oïdium ont été observés en Europe, et un suivi des différentes populations de pathogènes s'avère nécessaire. La troisième question est relative à la conception d'itinéraires techniques adaptés aux variétés résistantes, compte tenu des objectifs qualitatifs et quantitatifs attendus, en évitant au maximum le recours aux produits phytosanitaires. Toutefois, actuellement, il semble prudent, suivant le degré de la pression sanitaire exercée sur le végétal, de procéder à deux traitements afin d'éviter tout contournement de résistance, car la situation serait alors très compliquée. Par ailleurs certaines variétés résistantes sont sensibles à des maladies comme le black-rot, qui nécessite certaines années un ou deux traitements supplémentaires.

INRAE a mis en place des dispositifs de suivi longue durée et de dimension nationale :
– le réseau d'expérimentations systèmes SALSA, intégré au dispositif DEPHY EXPE, afin de tester des systèmes de culture en approche agroécologique, qui combinent l'usage de la résistance variétale, les régulations naturelles, la gestion du sol mécanisée et l'usage de produits phytosanitaires en dernier lieu si nécessaire ;
– l'Observatoire national du déploiement des cépages résistants (OSCAR) qui s'appuie sur des expérimentations conduites chez les viticulteurs, suivant une approche participative ;
– la modélisation mathématique permet de comprendre comment les dynamiques épidémiologiques d'élimination des résistances sont affectées par les stratégies de répartition des variétés dans le paysage et par les caractéristiques de ces paysages. Elle apporte donc une compréhension de ces processus à une échelle territoriale.

Méthodes de biocontrôle pour la protection phytosanitaire de la vigne

Le biocontrôle représente l'ensemble des méthodes de protection phytosanitaire des plantes utilisées principalement de façon préventive. Il s'appuie sur des mécanismes naturels de régulation des bioagresseurs par rapport aux équilibres entre espèces, dans le cadre de la lutte intégrée contre les ennemis des cultures. L'objectif n'est pas d'éradiquer un pathogène, mais de limiter sa présence afin qu'elle ne nuise pas à la culture.

Les produits de biocontrôle sont classés en 4 grandes catégories (tableau 7.2).

Tableau 7.2. Classement des produits de biocontrôle.

Catégorie	Nature	Exemples
Macro-organismes	Organismes vivants de taille macroscopique	Nématodes, insectes, invertébrés, vertébrés…
Micro-organismes	Organismes vivants microscopiques	Bactéries, levures, champignons, virus
Médiateurs chimiques	Molécules de communication ou de comportement sexuel	Kairomones ou phéromones afin de lutter contre les tordeuses de la grappe : eudémis et cochylis.
Substances diverses d'origine naturelle	Substances végétales, animales, minérales	Nombreuses origines et nombreux mode d'action.

Excepté la catégorie des macro-organismes, les produits de biocontrôle sont des produits phytopharmaceutiques (PPP), soumis à Autorisation de mise sur le marché (Règlement CE 1107/2009), dont les modalités sont variables suivant la nature des produits. Le statut biocontrôle est attribué aux produits respectant une liste de critères tels que l'exclusion de certaines mentions de danger envers l'environnement et la santé, l'origine naturelle des substances actives… Actuellement une quarantaine de substances contre les maladies cryptogamiques et une trentaine contre les ravageurs sont répertoriées sur la liste officielle des produits de biocontrôle pour la viticulture (https://agriculture.gouv.fr/quels-sont-les-produits-de-biocontrole).

Les modes d'action peuvent être multiples : stimulation des défenses naturelles des plantes, émission de substances répulsives, compétition spatiale et nutritive sur les pathogènes par des bactéries ou des champignons. Toutefois, malgré quelques points communs, ils diffèrent des moyens de lutte pratiqués en agriculture biologique. Certains produits de biocontrôle ne sont pas utilisables en agriculture biologique car ce sont des produits de synthèse et inversement, certains insecticides AB, comme ceux à base de spinosad contre les tordeuses de la vigne, ne sont pas listés dans le biocontrôle (le spinosad est toxique pour les pollinisateurs et certains auxiliaires…).

La mise en œuvre du biocontrôle est généralement fonction de la nature et du mode d'action des solutions de biocontrôle. Certaines techniques et produits sont déjà bien connus : le soufre contre l'oïdium, les phéromones pour la confusion sexuelle (figure 7.6) les insecticides à base de *Bacillus thuringiensis*… Leur mode d'emploi est clairement défini et ils peuvent avoir une bonne efficacité.



Figure 7.6. Capsule de phéromones pour maîtriser les tordeuses de la grappe (© Macary).

De nombreux programmes de recherche ont testé l'usage des trichogrammes (micro-hyménoptères parasitoïdes des œufs de tordeuses), avec des succès mitigés. L'Institut français de la vigne et du vin conseille de mettre en place un programme de pose de diffuseurs de phéromones, en évitant l'application de soufre pendant la période de couverture (IFV, 2022b).

Concernant l'usage de stimulateurs des défenses naturelles (SDN), les préconisations proposent d'utiliser des produits complémentés avec des doses réduites de fongicides conventionnels, en début ou fin de saison, en fonction de la présence ou non de symptômes. La période de la floraison, qui est la plus sensible, reste couverte de façon conventionnelle. Ces produits ne sont pas toujours classés en biocontrôle ; cela dépend de leur mode d'action et de leur composition. Les conditions d'application relatives à l'emploi des micro-organismes vivants (par exemple dans la compétition contre le botrytis) sont liées aux conditions climatiques (hygrométrie forte, température modérée), celles-ci devant contribuer à favoriser leur implantation.

Il est à noter que les produits « biostimulants » agissent sur la croissance et le développement du végétal, mais ils ne protègent pas contre les maladies ou les ravageurs ; ce ne sont pas des produits phytopharmaceutiques. Ils appartiennent à la catégorie des matières fertilisantes et support de culture (MFSC).

Quelle efficacité pour le biocontrôle ? Par définition, le biocontrôle agit sur les équilibres ; il cherche, non pas à éradiquer systématiquement le pathogène, mais

à faire baisser la pression parasitaire. Il est alors plutôt question d'efficacité « partielle », tout dépend de la nature des solutions. Les solutions anciennes telles que confusion sexuelle, insecticides à base de *Bacillus thuringiensis*, soufre, phosphites… sont bien maîtrisées. Pour d'autres plus récentes telles que les SDP (Stimulateurs de défense des plantes) qui agissent sur la physiologie de la vigne et indirectement, les résultats sont plus aléatoires sur le pathogène ce qui explique que, lors de fortes contaminations, les préconisations d'emploi proposées actuellement les associent avec des fongicides.

À l'exception du soufre, aucun programme utilisant exclusivement des produits de biocontrôle ne permet d'assurer une protection efficace de la vigne contre le mildiou et l'oïdium, surtout en cas de forte pression.

Quel est son coût ? Le coût d'un produit de biocontrôle est généralement un peu plus élevé que celui d'un produit conventionnel. De plus, sa mise en œuvre nécessite dans certains cas un traitement spécifique, des cadences de traitement plus resserrées, du temps de pose de diffuseurs…

Viticulture de précision et robotique en vue d'un désherbage mécanique

Depuis ces dernières années, le développement du matériel de précision et de la robotique présente des effets bénéfiques pour la conduite du vignoble. Si les méthodes de travail du sol et de désherbage mécanique de l'inter-rang sont déjà anciennes, de multiples outils permettent plus récemment d'opérer sur le rang au niveau de cet espace dénommé « cavaillon ». Ils représentent ainsi une alternative aux herbicides chimiques, dont le glyphosate. Les décavaillonneuses, ces espèces de charrues permettant d'enlever la terre autour des pieds de ceps et sur le cavaillon, existent depuis plusieurs décennies. Mais la vitesse de chantier est relativement lente et le risque de casser des ceps oriente actuellement les producteurs vers d'autres types d'outils, soit pour travailler le sol sur cette portion de sol, soit pour tondre l'herbe :

– le désherbage mécanique sur le cavaillon est une contrainte spécifique à la vigne, car il s'agit de désherber le pied des souches sans les abîmer. Il peut être effectué par des lames bineuses, des outils rotatifs à axe vertical ou horizontal ;

– les lames bineuses sont des outils de travail superficiel interceps, adaptées à un entretien régulier, mais non à une première intervention en saison. La lame d'environ 50 cm de long coupe les racines des adventices à quelques centimètres du sol. Les vitesses de passage sont de l'ordre de 5 à 6 km/h. Elles peuvent être complétées par un disque latéral ou un coutre pour faciliter la pénétration dans le sol, et des ailettes crénelées au-dessus de la lame favorisent l'émiettement des mottes de terre ;

– des outils rotatifs à axe vertical ou horizontal entraînent des petites lames dans le sol et détruisent les adventices, mais ils présentent l'inconvénient de déplacer de la terre hors du cavaillon (figure 7.7).



Figure 7.7. Lame bineuse et outils rotatifs avec axe vertical et horizontal (© Macary).

Tous les outils interceps demandent en général de la puissance, une vitesse de déplacement réduite, et leur réglage n'est pas toujours facile. Pour pallier ces inconvénients, les constructeurs proposent des outils « passifs » (par exemple l'étoile de binage Kress) qui peuvent être utilisés à une vitesse plus élevée, de 7 à 8 km/h (IFV, 2018).

Il n'y a pas d'outil miracle, la maîtrise des adventices repose sur un itinéraire technique annuel. Mais pour accompagner les restrictions en matière d'herbicides, les fabricants ont développé de nombreuses innovations qui permettent de réaliser ce travail de façon plus efficace et économique.

Des robots viticoles sont en cours d'expérimentation pour la tonte sur le cavaillon, l'enherbement permanent et la gestion des adventices. La hauteur de l'herbe est un élément à prendre en compte pour le fonctionnement de ces robots.

Viticulture de précision pour une pulvérisation ciblée et économe

Lors de la pulvérisation sur la végétation, les panneaux récupérateurs permettent de réduire fortement la dérive aérienne et de limiter les quantités de pesticides non projetées sur le feuillage, mais lessivées sur le sol, permettant de récupérer environ 30 à 40 % des quantités pulvérisées (IFV, 2017). De plus, le pilotage numérique de la pulvérisation permet désormais une modulation des doses en fonction du

stade de la végétation et de sa surface. L'informatique embarquée peut donner à tout instant des renseignements sur les conditions météorologiques de température, l'hygrométrie, le vent, et sur le niveau de la dose à appliquer, suivant le degré de contamination. Il convient de privilégier des panneaux récupérateurs à jets portés avec des buses à fente et injection d'air, car la pulvérisation est de très bonne qualité, avec une grande efficacité contre la dérive (figure 7.8). La vitesse d'avancement est adaptée à la topographie et suivant les conditions du sol. Il est cependant à préciser que ces appareils très lourds ne sont pas réellement adaptés aux sols pentus.





Figure 7.8. Panneaux récupérateurs sur pulvérisateurs portés et tractés (© Macary).

En revanche, les systèmes à jets projetés sont à éviter, car la pression est insuffisante pour une bonne pénétration au cœur du feuillage, et il en est de même pour les pneumatiques qui émettent des gouttelettes trop fines pour pouvoir être correctement récupérées.

Un procédé innovant, le *bliss ecospray*[30], est utilisé pour une pulvérisation face par face aéroconfinée. Il confine la pulvérisation par un flux d'air laminaire infranchissable. Ce flux d'air devient turbulent au centre du feuillage pour favoriser le dépôt du produit de manière homogène sur les feuilles et en cœur de vigne. Un effet d'induction amplifie fortement le flux aspiré et retient les gouttes non projetées. Cette technologie permettrait de réduire la dérive dans l'air et sur le sol de plus de 80 %. Les vitesses de traitement traditionnellement pratiquées sont de 4 à 6 km/h en moyenne, afin de préserver la qualité du traitement. Quelques domaines sont déjà équipés en France.

Les capteurs numériques embarqués ou fixes tendent à se développer dans le cadre des OAD (outils d'aide à la décision). C'est par exemple le cas des capteurs fixes reliés à des pièges à insectes, qui permettent d'évaluer leur nombre à distance afin que le viticulteur puisse bénéficier de cette information dans le cadre de la surveillance biologique de son vignoble, et évaluer la nécessité, ou non, d'une intervention. Les capteurs embarqués sur le pulvérisateur permettent de délivrer

30. https://bliss-ecospray.com/.

en post-traitement une cartographie de la répartition de la bouillie au sein du parcellaire. La démarche est en cours de finalisation expérimentale.

L'usage des drones, également encore expérimental, présente un potentiel d'intérêt pour établir un diagnostic précis sur l'état sanitaire de la vigne par rapport aux maladies fongiques, en intra et extra-parcellaire, en relation avec la cartographie sur SIG de l'exploitation viticole.

Des traitements UV sont actuellement en cours d'expérimentation pour stimuler la vigne en provoquant un stress intense de moins d'une seconde, afin d'améliorer son système de défenses naturelles et ainsi de limiter l'usage de produits phytosanitaires[31].

Les freins aux changements de pratiques traditionnelles, voire aux modes de conduite

Les freins aux changements de pratiques en viticulture sont multiples.

Un premier frein économique

Le changement de pratiques pour faire face à un contexte économique et sociétal de plus en plus difficile lié à la conjoncture, aux aléas climatiques de plus en plus fréquents, au risque sanitaire qui varie d'une année à une autre, à l'évolution des marchés… entraîne souvent des investissements en termes de matériel et de main-d'œuvre.

La mise en œuvre de certaines pratiques en viticulture biologique peut également entraîner une perte de rendement dans les premières années (couverts végétaux, travail du sol…).

Le changement de pratiques ou de mode de conduite représente donc une prise de risque important pour le viticulteur, le plus redouté étant le risque de perte de rendement, d'où l'aversion à ce risque évoquée au chapitre 1, en relation avec la réduction des traitements phytosanitaires.

Pour assurer une protection efficace contre une maladie comme le mildiou, il importe de pouvoir traiter rapidement l'ensemble de son vignoble, idéalement dans la même journée, ce qui nécessite des investissements en personnel et en matériel de pulvérisation qui peuvent être conséquents.

Un frein technique

Il y a des pratiques difficiles à mettre en œuvre dans certains contextes pédoclimatiques. C'est le cas de la réduction de l'utilisation des fongicides pour lutter contre le mildiou et l'oïdium principalement, l'adoption du désherbage mécanique sur les sols en pente, la mise en place d'infrastructures agroécologiques sur des parcelles en milieu urbain.

L'introduction de nouvelles pratiques et le changement de mode de conduite nécessitent une excellente maîtrise technique. Ils impliquent le plus souvent la nécessité de se former et d'être accompagné.

31. https://www.covigneron.com/rayon-uv-vignes/.

Un frein « psychologique »

La mise en place de pratiques agroécologiques a pour objectif principal de rétablir progressivement les processus écologiques au sein des parcelles, mais ces processus sont parfois longs et les résultats peuvent être aléatoires, au moins durant les premières années.

Certains viticulteurs trouveront également difficile de quitter un groupe de travail mettant en œuvre des pratiques conventionnelles pour adhérer à une communauté d'exploitants d'effectif réduit.

Des freins « réglementaires »

Certains traitements sont obligatoires, notamment contre la flavescence dorée. Près de la moitié des vins produits en France sont en AOP, dont les cahiers des charges définissent strictement l'encépagement, ce qui limite les possibilités d'introduction de variétés interspécifiques résistantes aux maladies cryptogamiques.

Modélisation de scénarios pour des stratégies de transition

Préalablement à la construction de scénarios en vue d'une transition des systèmes de production conventionnels vers des systèmes en rupture avec le raisonnement dominant de la protection phytosanitaire, une étude empirique a été conduite dans le cadre du projet de recherche PhytoCOTE (cf. chapitre 1). Les performances environnementales et socio-économiques d'un groupe de 38 viticulteurs répartis dans la région viticole du Blayais ont été évaluées à l'intérieur du bassin-versant expérimental (BVE) de 830 ha et à l'extérieur de ce bassin. L'activité agricole prépondérante dans cette zone d'étude est la viticulture (53 % de la SAU). Le reste de la superficie est occupé principalement par des prairies permanentes et des bois.

Les informations nécessaires proviennent d'enquêtes de terrain dans ce BVE chez des professionnels indépendants et coopérateurs. Elles ont été complétées par d'autres à l'échelle de la région, afin d'obtenir une plus grande variété de données concernant les pratiques et modes de conduite viticole. Une coopérative viticole importante est localisée sur ce BVE : les Vignerons de Tutiac (500 adhérents, 5 000 ha de vignes en AOP, 250 000 hectolitres de vin produits par an) dont l'influence locale en termes de modèle viticole est importante. D'autres initiatives ont alors pu être observées dans la zone d'étude élargie. Ces viticulteurs mettent en œuvre différents modes de conduite (conventionnel raisonné, biologique, biodynamique).

Synthèse des enquêtes terrain réalisées

Les enquêtes ont permis de caractériser les pratiques agricoles et viticoles adoptées par les professionnels en termes de : 1) protection phytosanitaire de la vigne (produits utilisés, doses appliquées, matériel de pulvérisation et surtout leurs critères de décision dans le choix des traitements effectués), 2) gestion de l'inter-rang (enherbement et travail du sol) et du cavaillon (entre deux pieds sur le rang),

3) travaux en vert de la vigne (ébourgeonnage, effeuillage…). Les parcelles sont conduites majoritairement en mode conventionnel raisonné, avec un développement progressif de la viticulture biologique, voire de la biodynamie. Les viticulteurs indiquent qu'ils sont le plus souvent attentifs au nombre maximal d'interventions phytosanitaires effectuées par année culturale, compte tenu du coût des traitements, des impacts sur l'environnement, de la santé. Les trois critères de décision les plus cités pour déclencher les traitements sont : les conditions météorologiques, les observations dans le vignoble et les avertissements agricoles ainsi que les autres messages des divers conseillers. Les traitements ne sont pas renouvelés automatiquement une fois la durée de rémanence achevée, à condition que les conditions météorologiques soient favorables et que le risque parasitaire soit faible. Une exploitation biologique a développé des concepts d'agroécologie et constitue *in situ* un modèle réel pour la construction des scénarios d'orientation des systèmes conventionnels vers une approche agroécologique systémique (Aouadi *et al.*, 2020).

L'objectif est d'évaluer le niveau de performances socio-éco-environnementales de chaque système viticole (activité de culture de la vigne au sein d'une exploitation agricole) suivant les pratiques mises en œuvre.

Méthodologie d'évaluation des performances de systèmes viticoles (SV)

La méthodologie appliquée à l'évaluation des performances des systèmes viticoles étudiés est la même que pour celle des scénarios construits ci-après. Les systèmes réels ou modélisés sont comparés à des « standards » établis suivant quatre catégories (très bonnes, bonnes, moyennes, faibles). Les critères d'évaluation retenus en relation avec les acteurs professionnels sont ceux qui participent le plus à l'acte de décision des pratiques à mettre en œuvre pour réduire l'usage des pesticides tout en conservant un bon niveau de résultat économique.

La figure 7.9 montre le schéma global de l'approche méthodologique.

Cette étude a été mise en œuvre en utilisant des méthodes multicritères pour l'aide à la décision de la famille Électre (Élimination et choix traduisant la réalité), méthodes dites « de surclassement », développées par Roy et son équipe à l'université Paris-Dauphine (Roy, 1968 ; Roy, 1985) et adaptées à l'agroenvironnement (Macary *et al.*, 2013, 2014). Elles présentent plusieurs avantages, tels que la possibilité de prendre en compte des critères qualitatifs et quantitatifs, et de pondérer les critères retenus.

Après la collecte de données, l'évaluation multicritère est réalisée suivant trois phases (Aouadi *et al.*, 2020) :
– phase 1 : chaque SV est affecté par le modèle de tri (Électre TRI-C) dans l'une des quatre catégories de performances prédéfinies ;
– phase 2 : au sein de chacune des catégories, un classement des SV est effectué par un autre modèle de rangement (Électre III) suivant leur niveau de performances ;
– phase 3 : chaque mode de production (conventionnel, biologique, certification environnementale) de chaque SV est affiché.

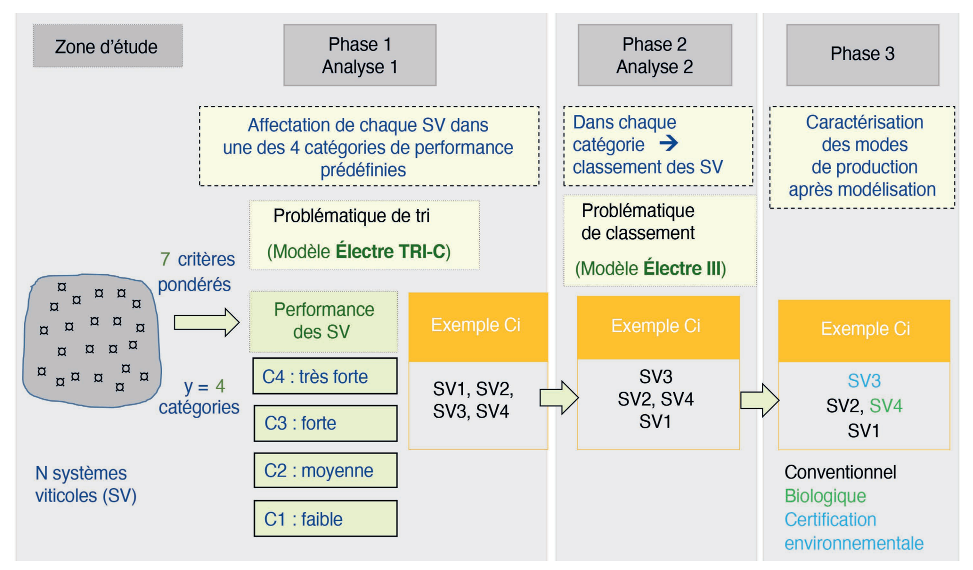


Figure 7.9. Approche méthodologique de l'évaluation des performances des systèmes viticoles (SV).

Le tableau 7.3 présente les critères retenus avec les acteurs professionnels pour l'évaluation des performances des systèmes viticoles.

Tableau 7.3. Critères d'évaluation et leurs descripteurs.

Nom du critère	Descripteur
CR1 (REN) : la rentabilité du système viticole (quantitatif).	Marge du système viticole : produit brut - charges opérationnelles - charges de mécanisation - main-d'œuvre.
CR2 (PPS) : la pression liée à l'usage des pesticides (quantitatif).	IFT : indice de fréquence de traitement (calculé au niveau du système viticole).
CR3 (IRE) : le risque d'écotoxicité des produits phytosanitaires (quantitatif).	IRTE : indice théorique de risque de toxicologie vis-à-vis de l'environnement.
CR4 (PAE) : les pratiques agroécologiques (qualitatif).	Nature de l'enherbement de l'inter-rang, désherbage du cavaillon, infrastructures agroécologiques (bandes enherbées, bandes fleuries, plantation ou entretien de haies, hôtel à insectes, nichoirs), usage de produits de biocontrôle.
CR5 (PUL) : le niveau de dérive lors de la pulvérisation (qualitatif).	Nature de l'appareil de pulvérisation : appareil confiné majoritairement, ou appareil face par face majoritaire par rapport aux panneaux récupérateurs, ou aéroconvecteurs majoritaires par rapport à d'autres de meilleure qualité, ou appareil pneumatique.
CR6 (TRA) : la charge de travail pour l'activité vigne (quantitatif).	Somme du nombre d'heures de travail mécanique pondéré et du nombre d'heures de travail manuel.
CR7 (SYS) : la complexité de la mise en œuvre du système (qualitatif).	Nombre d'opérations mécaniques et manuelles, ainsi que la disposition du parcellaire.

Le tableau 7.4 présente les résultats de pondération pour chaque critère en utilisant la méthode SRF spécifique aux méthodes Électre (Figueira et Roy, 2002).

Tableau 7.4. Pondération des critères.

	Critères	Poids (%)
CR1	Rentabilité économique (REN)	22
CR2	Pression des pesticides (PPS)	20
CR3	Risques d'écotoxicité (IRE)	15
CR4	Pratiques agroécologiques (PAE)	13
CR5	Qualité de la pulvérisation (PUL)	13
CR6	Charge de travail (TRA)	10
CR7	Complexité du système (SYS)	7

Une valeur caractéristique permettant de définir chaque catégorie de performance a été attribuée pour chacun des critères. Le modèle Électre TRI-C effectue une comparaison de chaque système étudié suivant chaque catégorie de référence pour chaque critère. Puis les fonctions d'agrégation (surclassement) permettent d'affecter chaque système à l'une des quatre catégories prédéfinies. En ce qui concerne le classement des SV dans chaque catégorie, le modèle Électre III compare deux à deux chaque système par critère, puis une fonction d'agrégation permet d'obtenir un rang final de classement. Les résultats obtenus permettent ainsi de connaître le rang de classement de chaque SV suivant les performances globales de tous les critères de manière systémique et par là même suivant son mode de production.

Ces résultats (présentés avec ceux des scénarios de transition) ont été analysés préalablement à la construction des scénarios, afin de proposer des SV permettant une baisse très significative de la pression phytosanitaire. Des scénarios ont été construits par un groupe de chercheurs d'INRAE en concertation avec les acteurs professionnels réunis en plusieurs groupes. Ces scénarios s'inscrivent dans la transition agroécologique, mais sont aussi tout à fait réalistes, c'est-à-dire qu'ils tiennent compte de modes de conduite et de pratiques qui existent déjà dans la région de l'étude, mais que l'on ne rencontre pas simultanément au sein d'un même système viticole. L'objectif de cette démarche est de montrer qu'il est tout à fait envisageable de développer sur une même exploitation viticole les différentes bonnes pratiques optimisées déjà présentes sur le terrain de façon diffuse. Elle vise à apporter une aide à la décision aux conseillers chargés d'indiquer les bonnes pratiques et de sensibiliser de façon pragmatique les viticulteurs. Ceux-ci demeurent les seuls à décider d'un changement de pratiques et d'un mode de production.

Dans les discussions préalables à la construction des scénarios, l'option d'orientation vers des scénarios de forte rupture par rapport aux situations empiriques étudiées n'a pas été retenue. Le choix des praticiens, qui travaillaient pour la plupart en mode conventionnel, s'est porté vers des scénarios de transition réalistes, compte tenu de pratiques innovantes ayant fait leurs preuves chez certains viticulteurs de la région.

Ainsi, trois scénarios de changements de pratiques ont été proposés, combinant des bonnes pratiques observées sur le territoire et associées au sein d'un même système viticole, dans le but de réduire le recours aux pesticides.

Ces trois scénarios présentent trois orientations différentes concernant la stratégie phytosanitaire (figure 7.10) et celle de la gestion du sol et des opérations d'entretien (figure 7.11) :
– scénario 1 (Sc1-Raisonné-Max) : optimisation maximale des pratiques raisonnées de viticulteurs conventionnels, faisant l'hypothèse qu'ils n'iront pas au-delà (passage en mode biologique…) ;
– scénario 2 (Sc2-Agroécologie) : mise en œuvre d'approches agroécologiques par des viticulteurs non bio, donc avec la possibilité d'utiliser des produits phytosanitaires de synthèse, hors CMRs et herbicides ;
– scénario 3 (Sc3-Agroécologie-Bio) : approches agroécologiques chez des viticulteurs fonctionnant déjà en mode biologique, permettant de gérer au mieux les formulations à base de cuivre les moins écotoxiques.

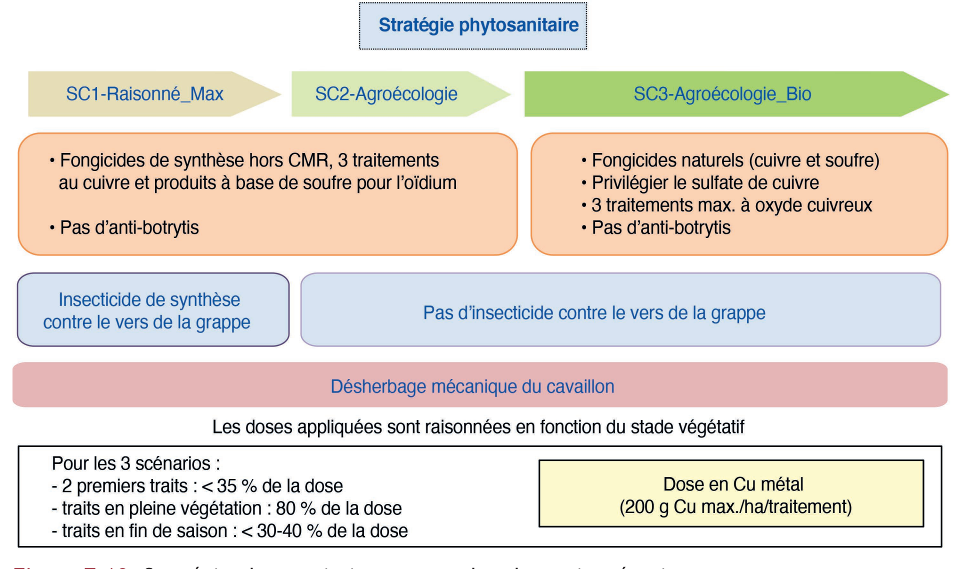


Figure 7.10. Stratégie phytosanitaire retenue dans les trois scénarios.

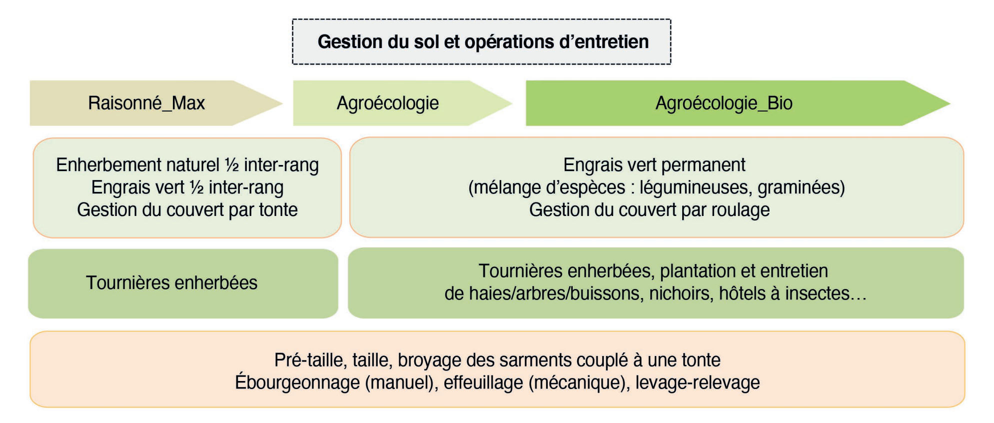


Figure 7.11. Stratégie de la gestion du sol et opérations d'entretien des trois scénarios.

La construction de ces scénarios a été réalisée en impliquant les principaux acteurs concernés, particulièrement quelques viticulteurs et des conseillers de terrain. L'enquête réalisée initialement a permis, entre autres, d'identifier leurs contraintes techniques et économiques ainsi que leurs besoins vis-à-vis des changements de pratiques. Un des éléments les plus importants qui ressort des différentes concertations est la faisabilité technique des nouvelles pratiques en termes de matériel et surtout de charge de travail.

La stratégie phytosanitaire des différents scénarios consiste à supprimer tous les produits CMR, les désherbants dans l'inter-rang et sous le cavaillon, les fongicides anti-botrytis, ainsi que les insecticides contre les vers de la grappe dans les scénarios 2 et 3, car ils sont compensés par les pratiques agroécologiques. Un seul traitement insecticide contre les tordeuses de la grappe est prévu dans le scénario 1.

La gestion du sol repose sur le maintien d'un couvert végétal : engrais vert semé résultant d'un mélange de graines de graminées et légumineuses, puis roulage du couvert pour assurer la pérennité des espèces, en scénarios 2 et 3. Pour le scénario 1, un engrais vert est semé un rang sur deux et l'autre rang est en couvert naturel.

Dans les trois cas, les infrastructures agroécologiques présentent des tournières (bordures) enherbées et fleuries. De plus, dans les scénarios 2 et 3, il est prévu l'entretien et la plantation de haies ou d'arbres de différentes essences, ainsi que la mise en place de nichoirs pour oiseaux, de refuges pour chauves-souris et de pièges à insectes. L'adoption de ces pratiques agroécologiques permet de rétablir les régulations biologiques naturelles et de supprimer les traitements insecticides (exceptés ceux, obligatoires par arrêté préfectoral, contre la cicadelle *Scaphoïdeus titanus,* vecteur de la flavescence dorée).

Le tableau 7.5 présente les valeurs retenues par critère pour les 3 scénarios durant cette étude. Ainsi par exemple la pression des pesticides représente une valeur d'IFT de 11 pour le SC1 en raisonné max, de 10 en agroécologie non bio et de 7 en agroécologie bio. La référence de l'IFT régional en viticulture sur la même période était de 16,9.

Tableau 7.5. Valeurs de chaque scénario de système viticole par critère.

SV	REN	PPS	IRE	PAE	PUL	TRA	SYS
SC1	3 062	11	4 886	46	8	292	12
SC2	3 617	10	4 950	56	8	232	4
SC3	4 274	7	7 283	56	8	268	12

Résultats de la comparaison de systèmes viticoles réels avec ceux des scénarios

Le tableau 7.6 présente les résultats finaux obtenus suite à la double modélisation de tri et de classement des SV au sein des catégories de performances.

Tableau 7.6. Classement des performances des 38 SV et 3 scénarios.

Catégories	Performances	Systèmes viticoles et scénarios	Effectifs
C4	Performances très fortes	SC3* SC2 SV59	3 (7,3 %)
C3	Performances fortes	[SC1, SV42]** [SV09, SV38, SV62] [SV40, SV56, SV61, SV67] [SV07, SV55] [SV54, SV39]	13 (31,7 %)
C2	Performances moyennes	SV36 SV63 [SV32, SV58, SV65] [SV33, SV50, SV53] [SV10, SV60, SV66, SV68] [SV05, SV52] SV04 SV11 [SV08, SV31] [SV18, SV57] SV51 [SV23, SV64]	23 (56,0 %)
C1	Performances faibles	SV22 SV34	2 (5,0 %)

* SV Bio / SV certifié environnemental / SV raisonné / SC scénario de SV.

** Les scénarios regroupés entre crochets correspondent à des systèmes viticoles à performances non discriminées, c'est-à-dire équivalentes ou ne pouvant être différenciées.

L'évaluation multicritère des performances des SV caractérisés *a posteriori* par les modes de conduite montre un très bon niveau de performances pour les systèmes en mode biologique (hypothèse faite que tous les SV étudiés ou modélisés obtenaient les rendements fixés par le décret d'appellation). La supériorité des systèmes biologiques par rapport aux autres s'explique par une valorisation économique du produit actuellement plus importante et un niveau de pression phytosanitaire plus faible due à l'absence des herbicides et des insecticides classiques. En revanche, les formules cupriques (notamment sous forme d'hydroxyde et d'oxyde cuivreux) classiquement utilisées dans ces systèmes contre le mildiou et le black-rot peuvent présenter une écotoxicité importante.

Il est aussi à noter que le niveau de charge de travail dans les systèmes biologiques est plus élevé que dans les autres modes de conduite, ce qui rend plus difficile l'acceptabilité de ces systèmes par les viticulteurs dans des exploitations de grande surface. Les observations sur la vigne sont également indispensables et nécessitent du temps afin de maîtriser au mieux les processus de régulation biologiques.

Les scénarios 2 et 3 en démarche agroécologique se situent à un niveau de performances très fortes par rapport à tous les autres (le SV59 réel étant en démarche

agroécologique bio), alors que le scénario 1, en mode conventionnel raisonné maximal, se situe dans la catégorie inférieure mais néanmoins jugée forte. Ses performances sont alors équivalentes au niveau de systèmes conduits en mode biologique et de certains conventionnels très raisonnés, proches de ce mode, mais sans labellisation.

Il en ressort que les viticulteurs en mode conventionnel qui ne souhaitent pas s'engager dans une démarche de production agrobiologique, voire agroécologique, peuvent néanmoins faire évoluer leurs choix décisionnels et pratiques assez fortement pour améliorer la performance globale de leur système de production viticole. On rejoint alors des résultats obtenus dans les fermes DEPHY EXPE qu'il conviendrait désormais de pouvoir mieux vulgariser dans les territoires des différents pays viticoles.

Les raisons du choix de notre démarche agroécologique en viticulture au Domaine Émile Grelier

Le Domaine Émile Grelier est une exploitation viticole qui s'étend sur 17 ha, du nord-est Gironde, sur la commune de Lapouyade. Nous avons choisi de travailler de manière écologique en mettant en œuvre une agriculture basée sur le bon sens paysan et l'application des principes agronomiques du vivant. Le vignoble familial dans lequel j'ai grandi étant déjà engagé dans l'agriculture biologique et biodynamique, c'est tout naturellement que nous nous sommes dirigés vers l'agriculture biologique. En 2013, un ami entomologiste a fait une constatation plutôt décevante sur le vignoble : nous n'avions rien d'intéressant en termes de biodiversité. D'autre part, lors d'une table ronde avec différentes associations sur la biodiversité, l'arbre s'est révélé comme l'élément central pour un écosystème durable et résilient. Ainsi, nous nous sommes engagés dans l'aventure que constitue l'agroforesterie. Aujourd'hui cela représente 800 arbres plantés en intra parcellaire (¾ d'arbres fruitiers, ¼ de feuillus) et 1 500 mètres linéaires de haies qui protègent le vignoble.

Mais comme nous souhaitions garder une démarche globale, d'autres aménagements se sont ajoutés. Nous avons en partie créé des mares, à la fois pour apporter de l'eau aux êtres vivants déjà présents sur le vignoble et pour favoriser l'implantation de nouvelles espèces telles que des libellules et des batraciens. 50 nichoirs ont été installés dans l'objectif d'offrir un gîte aux oiseaux et aux chauves-souris. De la même façon, des tas de branchages et des plaques de chauffes destinés aux reptiles et aux hérissons sont à disposition. L'un des plus gros changements dans la gestion du vignoble a été l'arrêt de la tonte des rangs enherbés. En offrant de nombreuses fleurs utiles aux insectes, nous favorisons le développement de la faune et nous permettons à celle-ci de se déplacer tout en se protégeant. Ainsi, nous privilégions la régulation naturelle, en particulier la prédation naturelle des ravageurs de la vigne.

Notre objectif est de vivre d'une viticulture respectueuse et durable. L'ensemble de nos actions vise à augmenter la biodiversité et à anticiper les dérèglements climatiques. Les arbres devraient nous apporter de nombreux bénéfices : amélioration des propriétés agronomiques du sol, augmentation des défenses naturelles et de la résistance aux différents stress de la vigne… Leur effet brise-vent, la réduction du rayonnement qu'ils engendrent, leur rôle de tampon thermique ainsi que leur capacité à fixer du carbone sont des points clés face aux enjeux actuels et futurs. L'inconvénient le plus important est la patience que cela requiert.

La mise en place de l'agroforesterie demande de savoir remettre en question son modèle et d'être prêt à adapter ses pratiques. Le cycle de l'arbre étant long, les résultats ne sont pas immédiats et la visibilité de son impact exige du temps. Néanmoins, pour prévenir les changements climatiques à venir, c'est maintenant qu'il faut agir !

Nos préoccupations pour l'avenir sont à l'image des enjeux environnementaux. Les gelées sont de plus en plus fréquentes, les canicules plus précoces et aujourd'hui la vigne est ravagée par la grêle. Quelles sont les solutions qui s'offrent à nous ? Nous avons fait le choix de l'agroécologie et l'agroforesterie. Leur efficacité sera d'autant plus grande si nous évoluons ensemble vers pratiques plus vertueuses, avec l'appui et le soutien de consommateurs de plus en plus avertis et demandeurs de bonnes conditions sanitaires et environnementales de production.

Témoignage de Benoît Vinet, viticulteur bio, en démarche agroécologique.

Les images suivantes (figure 7.12) illustrent quelques-unes des pratiques agroécologiques développées au sein du Domaine Émile Grelier.



Figure 7.12. Pratiques agroécologiques au Domaine Émile Grelier (© Macary).

Conclusion et perspectives

Face aux évolutions de la réglementation en vue d'une réduction très significative, à court terme, de l'usage des pesticides, et sous la pression grandissante de l'opinion publique, les professionnels de la filière viticole sont amenés à faire évoluer leurs pratiques, voire leurs modes de production. Des résultats très favorables, obtenus tant dans les fermes expérimentales du réseau DEPHY que dans des modélisations de performances socio-économiques et environnementales de systèmes viticoles alternatifs, démontrent qu'il est désormais tout à fait envisageable d'adapter les modes de conduite de la vigne et d'appliquer un ensemble de pratiques à cet effet, dans le courant de la transition agroécologique.

Cela requiert toutefois un certain niveau de compétences et une disponibilité sur le terrain pour l'observation de la vigne et la mise en œuvre de pratiques agroécologiques validées, favorisant les processus biologiques naturels. Un accompagnement personnalisé par des conseils adaptés est généralement souhaitable, voire nécessaire, ainsi qu'un partage d'expériences en réseau avec d'autres viticulteurs, y compris d'autres régions.

Enfin, la réussite de la transition agroécologique ne pourra être atteinte que si l'ensemble des méthodes et des résultats obtenus dans les différentes démarches alternatives, conduisant entre autres à une réduction significative de l'usage des pesticides, sont vulgarisés au mieux dans les territoires viticoles des différents pays producteurs.

Références bibliographiques et numériques

Agence Bio, 2019. *L'agriculture Bio dans l'Union européenne*. Paris : Agence Bio, 134 p. https://www.agencebio.org/wp-content/uploads/2020/03/Carnet_UE-_2019.pdf.

Agence Bio, 2021. *Évolution des surfaces certifiées bio ou en conversion*. https://www.agencebio.org/vos-outils/les-chiffres-cles/observatoire-de-la-production-bio/observatoire-de-la-production-bio-nationale/.

Altieri M.A., 1995. *Agroecology : the science of sustainable agriculture (2nd ed.)*, Westview Press. https://www.amazon.fr/Agroecology-Science-Sustainable-Agriculture-Second/dp/0813317185.

Aouadi N., Macary F., Alonso Ugaglia A., 2020. Évaluation multicritère des performances socio-économiques et environnementales de systèmes viticoles et de scénarios de transition agroécologique. *Cahiers Agricultures* 29(19). https://doi.org/10.1051/cagri/2020016.

Aubertot J.N., Barbier J.M., Carpentier A., Gril J.J., Guichard L., Lucas P. *et al.*, 2005. *Pesticides, agriculture et environnement : réduire l'utilisation des pesticides et en limiter les impacts environnementaux. Expertise scientifique collective*. Paris : Institut national de la recherche agronomique ; Antony : Cemagref, 902 p.

Barbier J.M., Constant N., Davidou L., Delière L., Guisset M. *et al.*, 2011. *CEPviti : co-conception de systèmes viticoles économes en produits phytosanitaires*. [Rapport Technique] CEPviti. https://hal.inrae.fr/hal-02810893.

Calame M., 2016. *Comprendre l'agroécologie : origines, principes et politiques*. Paris : Éditions Charles Léopold Mayer, 156 p.

Chavetnoir A., 2015. La réduction des pesticides dans les vignes contribue au retour des papillons. *SciencePost*. https://sciencepost.fr/reduction-pesticides-vignes-contribue-retour-papillons/.

De Schutter O., 2010. *Rapport du Rapporteur spécial de l'Organisation des Nations unies sur le droit à l'alimentation*, 19 p. https://www2.ohchr.org/english/bodies/hrcouncil/docs/19session/A.HRC.19.59.Add.4_French.pdf.

Deguine J.-P., Gloanec C., Laurent P., Ratnadass A., Aubertot J.N. (coord.), 2016. *Protection agroécologique des cultures*. Versailles : éditions Quæ, 288 p. (coll. Savoir faire).

Delière L., 2018. Comment accompagner le déploiement des nouvelles variétés de vigne résistantes au mildiou et à l'oïdium ? *In* Lespinasse Y. (anim.), *Révolution variétale en viticulture.* Paris : Académie d'Agriculture de France. https://www.academie-agriculture.fr/actualites/academie/seance/academie/revolution-varietale-en-viticulture-de-nouveaux-cepages.

Doré T., Bellon S., 2019. *Les mondes de l'agroécologie*. Versailles : éditions Quæ, 176 p. (coll. Enjeux sciences).

Figueira J., Roy B., 2002. Determining the weights of criteria in the Electre type methods with a revised Simos' procedure. *European Journal of Operational Research*, 139(2), 317-326. https://doi.org/10.1016/S0377-2217(01)00370-8.

Gary C., Metral R., Metay A., Garcia L., Merot A., Smits N. *et al.*, 2017. Towards an agroecological viticulture : advances and challenges. *In 20th International Meeting GiESCO* (Mendoza, Argentina).

IFV (Institut français de la vigne et du vin), 2017. *Guide pratique de réglages et d'utilisation des pulvérisateurs viticoles : comment bien choisir et régler son appareil pour protéger sa vigne et l'environnement*, 28 p. https://gard.chambre-agriculture.fr/fileadmin/user_upload/Occitanie/066_Inst-Gard/Documents/4_Productions_et_techniques_doc/EQUIPEMENT/Guide_Pulve_2017.pdf.

IFV (Institut français de la vigne et du vin), 2018. *Robots viticoles et transition agro écologique : gestion de la tonte et des adventices*, 3 p. https://www.sinafis.com/wp-content/uploads/2021/01/Sinafis_IFV_Robot_Tonte.pdf.

IFV (Institut français de la vigne et du vin), 2022a. *Guide transition agroécologique & changement climatique en viticulture*, 80 p. https://www.vignevin.com/wp-content/uploads/2022/02/2-24-02-2022-GuideTAECC-web.pdf.

IFV (Institut français de la vigne et du vin), 2022b. *Fiches pratiques en viticulture*. https://www.vignevin-occitanie.com/fiches-pratiques/.

IFV, INAO, 2017. *Guide de l'agroécologie en viticulture : développement des mesures agroenvironnementales*, 52 p. https://draaf.occitanie.agriculture.gouv.fr/IMG/pdf/guideagroecologie_web_3_16_fevrier_20171_cle015a4d.pdf.

INRAE, IFV, 2022. *Observatoire national du déploiement des cépages résistants. Réglementation : les variétés classées*. https://observatoire-cepages-resistants.fr/documentation/reglementation/.

JORF (Journal officiel de la République française), 2009. *Loi n° 2009-967 du 3 août 2009 de programmation relative à la mise en œuvre du Grenelle de l'environnement*. https://www.legifrance.gouv.fr/eli/loi/2009/8/3/2009-967/jo/texte.

JORF (Journal officiel de la République française), 2014. *Loi n° 2014-1170 du 13 octobre 2014 d'avenir pour l'agriculture, l'alimentation et la forêt*. https://www.legifrance.gouv.fr/loda/id/JORFTEXT000029573022/.

JORF (Journal officiel de la République française), 2019. Ordonnance n° 2019-361 du 24 avril 2019 relative à l'indépendance des activités de conseil à l'utilisation des produits phytopharmaceutiques et au dispositif de certificats d'économie de produits phytopharmaceutiques. *In* JORF n° 0097 du 25 avril 2019, p. 93. https://www.legifrance.gouv.fr/eli/jo/2019/4/25/0097.

JOUE (Journal officiel de l'Union européenne), 2006. Règlement (CE) n° 1907/2006 du Parlement européen et du Conseil du 18 décembre 2006, concernant l'enregistrement,

l'évaluation et l'autorisation des substances chimiques, ainsi que les restrictions applicables à ces substances (Reach), instituant une agence européenne des produits chimiques. *Journal officiel de l'Union européenne L 396 du 30 décembre 2006*.

Le Foll S., 2017. *La première graine*. Paris : Calmann-Lévy, 173 p.

Lecocq R., 2022. Europe : une étape cruciale vers la réduction de 50 % de pesticides d'ici à 2030. *Pleinchamp*. https://www.pleinchamp.com/actualite/europe-une-etape-cruciale-vers-la-reduction-de-50-de-pesticides-d-ici-a-2030.

Leenhardt S., Mamy L., Pesce S., Sanchez W., Amichot M., Artigas J. *et al*., 2022. *Impacts des produits phytopharmaceutiques sur la biodiversité et les services écosystémiques. Synthèse de l'expertise collective*. Paris : INRAE-Ifremer, 136 p.

Lempereur V., Gautier J., Herbin C., 2017. Le guide de l'agroécologie en viticulture, un outil pour la filière. *BIO Web of Conferences* 9, 01007 https://doi.org/10.1051/bioconf/20170901007.

MAAF (Ministère de l'Agriculture, de l'Agroalimentaire et de la Forêt), 2012. *Agricultures, produisons autrement : projet agroécologique pour la France*. http://agriculture.gouv.fr/Produisons-autrement.

Macary F., Almeida Dias J., Figueira J., Roy B., 2014. A multiple criteria decision analysis model based on Electre Tri-C for erosion risk assessment in agricultural areas. *Environmental Modeling & Assessment* 19, 221-242.

Macary F., Almeida-Dias J., Uny D., Probst A., 2013. Assessment of the effects of Best Environmental Practices on reducing pesticide contamination in surface water, using multi-criteria modelling combined with a GIS. *International Journal of Multicriteria Decision Making* 3(2-3), 178-211.

Macary F., Guerendel F., Alonso Ugaglia A., 2020. Quels apports de la littérature pour comprendre et construire la transition agroécologique en viticulture ? *Cahiers Agricultures*, 29(38). https://doi.org/10.1051/cagri/2020035.

MAP (ministère en charge de l'Agriculture), 2008. *Plan Écophyto 2018 de réduction des usages de pesticides 2008-2018*. http://temis.documentation.developpement-durable.gouv.fr/docs/Temis/0082/Temis-0082750/22141.pdf.

Merdinoglu D., 2018. Création de variétés de vigne résistantes au mildiou et à l'oïdium, en France et en Europe. *Révolution variétale en viticulture ! De nouveaux cépages résistant aux maladies : création, déploiement et impact sur la filière viticole*. Séance hebdomadaire publique de l'Académie d'Agriculture de France.

Pelsy F., Merdinoglu D., 2021. *La vigne, miracle de la nature ? 70 clés pour comprendre la viticulture*. Versailles : éditions Quæ, 176 p. (coll. Clés pour comprendre).

Rayneau Y., 2018. *Défis environnementaux de la viticulture : une analyse comportementale des blocages et des leviers d'action*. Doctorat en sciences économiques, économies et finances, université de Bordeaux, 392 p. + 128 p. annexes.

Roy B., 1968. Classement et choix en présence de points de vue multiples (la méthode Électre). *Revue française d'automatique, d'informatique et de recherche opérationnelle* 2(8), 57-75.

Roy B., 1985. *Méthodologie multicritère d'aide à la décision*. Paris : Économica, 423 p.

Union européenne, 2022. *Green Deal : propositions pionnières pour restaurer la nature en Europe d'ici 2050 et réduire de moitié l'utilisation des pesticides d'ici 2030*. https://ec.europa.eu/commission/presscorner/detail/en/ip_22_3746.

Wezel A., Bellon S., Doré T., Francis C., Vallod D., David C., 2009. Agroecology as a science, a movement and a practice : a review. *Agronomy for Sustainable Development*, 29(4), 503-515. https://doi.org/10.1051/agro/2009004.

Sigles et acronymes

AB : agriculture biologique.
AMM : autorisation de mise sur le marché.
ATP : adénosine triphosphate.
AChE : enzyme acétylcholinestérase.
ANSES : agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail.
AOP : appellation d'origine protégée.
BCAE : bonnes conditions agricoles et environnementales.
BDA : Black dead arm.
BIO : biologique.
BV : bassin-versant.
BVE : bassin-versant expérimental.
CE50 : concentration efficace médiane.
CEC : capacité d'échange des cations.
CEE : Communauté économique européenne.
CEx : concentration effective induisant x % d'effet sur la croissance de la plante.
CMR : cancérigène, mutagène, reprotoxique.
CNRS : centre national de la recherche scientifique.
CORPEN : Comité d'orientation pour des pratiques respectueuses de l'environnement.
CUMA : coopérative d'utilisation de matériels agricoles.
DCE : directive cadre sur l'eau.
DCSMM : directive cadre stratégie pour le milieu marin.
DGT : gradient diffusif en couche mince.
EDTA : acide éthylène diamine tétraacétique.
EPS : Extracellular polymeric substances (matrice polymérique extracellulaire).
ERO : espèces réactives de l'oxygène.
ETA : entreprise de travaux agricoles.
FD : flavescence dorée.
GAEC : groupement agricole d'exploitation en commun.
Ha : hectares.
HVE : Haute Valeur environnementale.
IAE : infrastructures agroécologiques.
ICV : Institut coopératif du vin.

IFREMER : Institut français de recherche pour l'exploitation de la mer.

IFT : indice de fréquence de traitement.

IFV : Institut français de la vigne et du vin.

INAO : Institut national de l'origine et de la qualité.

IgM : immunoglobulines.

IGP : indication géographique protégée.

INRAE : Institut national de recherche pour l'agriculture, l'alimentation, l'environnement.

MA : ministère en charge de l'agriculture.

MAE : mesure agroenvironnementale.

MAEC : mesure agroenvironnementale et climatique.

MFSC : matière fertilisante et support de culture.

MO : matière organique.

MOD : matière organique dissoute.

NOEC : concentration sans effet observé.

NQE : norme de qualité environnementale.

OAD : outil d'aide à la décision.

OFB : Office français de la biodiversité.

OIV : Organisation internationale de la vigne et du vin.

PBT : persistante, bioaccumulatrice et toxique.

PE : perturbateur endocrinien.

PNEC : Predicted no effect concentration (la concentration prédite sans effet).

PNPP : préparations naturelles peu préoccupantes.

POCIS : Polar organic chemical integrative samplers (échantillonneur passif pour la surveillance de l'eau).

PPP : produit phytopharmaceutique.

REACH : Registration, valuation, autorisation and restriction of chemicals.

SAU : surface agricole utilisée.

SDN : stimulateur de défense naturelle.

SIG : système d'information géographique.

SME : système de management environnemental.

SPE : Solid phase extraction (extraction en phase solide).

STEP : station d'épuration.

SV : système viticole.

UE : Union européenne.

Liste des auteurs

AKCHA Farida, Farida.Akcha@ifremer.fr, Ifremer, CCEM, 44000 Nantes.

AOUADI Nawel, nawel.aouadi@vins-saint-emilion.com, Conseil des vins de Saint-Émilion, 14 rue Guadet, 33330 Saint-Émilion.

BAUDRIMONT Magalie, magalie.baudrimont@u-bordeaux.fr, université de Bordeaux, CNRS, Bordeaux INP, EPOC, UMR 5805, 33600 Pessac.

BLONDEL Pierre, pierre.blondel@inrae.fr, INRAE, Bordeaux Sciences Agro, UMR ISPA, 33140 Villenave-d'Ornon ; INRAE, Bordeaux Sciences Agro, UMR SAVE, 33 140 Villenave-d'Ornon.

BOUTRY Sébastien, sebastien.boutry@inrae.fr, INRAE, UR EABX, 50 avenue de Verdun, Gazinet, 33612 Cestas Cedex.

BUDZINSKI Hélène, helene.budzinski@u-bordeaux.fr, université de Bordeaux, CNRS, Bordeaux INP, EPOC, UMR 5805, 33600 Pessac.

CACHOT Jérôme, jerome.cachot@u-bordeaux.fr, université de Bordeaux, CNRS, Bordeaux INP, EPOC, UMR 5805, 33600 Pessac.

CHAUMET Betty, betty.chaumet@inrae.fr, INRAE, UR EABX, 50 avenue de Verdun, Gazinet, 33612 Cestas Cedex.

CLÉRANDEAU Christelle, christelle.clerandeau@u-bordeaux.fr, université de Bordeaux, CNRS, Bordeaux INP, EPOC, UMR 5805, 33600 Pessac.

CORNU Jean-Yves, jean-yves.cornu@inrae.fr, INRAE, Bordeaux Sciences Agro, UMR ISPA, 33140 Villenave-d'Ornon.

CREUSOT Nicolas, nicolas.creusot@inrae.fr, INRAE, UR EABX, 50 avenue de Verdun, Gazinet, 33612 Cestas Cedex.

DAFFE Guillemine, guillemine.daffee@u-bordeaux.fr, université de Bordeaux, CNRS, Bordeaux INP, EPOC, UMR 5805, 33600 Pessac.

DENAIX Laurence, laurence.denaix@inrae.fr, INRAE, Bordeaux Sciences Agro, UMR ISPA, 33140 Villenave-d'Ornon.

DEVIER Marie-Hélène, marie-helene.devier@u-bordeaux.fr, université de Bordeaux, CNRS, Bordeaux INP, EPOC, UMR 5805, 33600 Pessac.

DUPRAZ Valentin, valentin.dupraz@u-bordeaux.fr, université de Bordeaux, CNRS, Bordeaux INP, EPOC, UMR 5805, 33600 Pessac.

ÉON Mélissa, melissa.eon@inrae.fr, INRAE, UR EABX, 50 avenue de Verdun, Gazinet, 33612 Cestas Cedex.

FEURTET-MAZEL Agnès, agnes.feurtet-mazel@u-bordeaux.fr, université de Bordeaux, CNRS, Bordeaux INP, EPOC, UMR 5805, 33600 Pessac.

GAILLARD Juliette, j.gaillard@smiddest.fr, université de Bordeaux, CNRS, Bordeaux INP, EPOC, UMR 5805, 33600 Pessac ; SMIDDEST, 12 rue Saint-Simon, 33390 Blaye.

GARABETIAN Frédéric, frederic.garabetian@u-bordeaux.fr, université de Bordeaux, CNRS, Bordeaux INP, EPOC, UMR 5805, 33600 Pessac.

GONZALEZ Patrice, patrice.gonzalez@u-bordeaux.fr, université de Bordeaux, CNRS, Bordeaux INP, EPOC, UMR 5805, 33600 Pessac.

GUILBAULT Pascal, pascal.guilbault@na.chambagri.fr, Chambre régionale d'agriculture de Nouvelle-Aquitaine, 33075 Bordeaux.

MACARY Francis, francis.macary@inrae.fr, INRAE, UR ETTIS, 50 avenue de Verdun, Gazinet, 33612, Cestas Cedex.

MAZZELLA Nicolas, nicolas.mazzella@inrae.fr, INRAE, UR EABX, 50 avenue de Verdun, Gazinet, 33612 Cestas Cedex.

MILLAN-NAVARRO, Débora, debora.millan-navarro@inrae.fr, INRAE, UR EABX, 50 avenue de Verdun, Gazinet, 33612 Cestas Cedex.

MOREIRA Aurélie, aurelie.moreira@inrae.fr, INRAE, UR EABX, 50 avenue de Verdun, Gazinet, 33612 Cestas Cedex.

MORIN Bénédicte, benedicte.morin@u-bordeaux.fr, université de Bordeaux, CNRS, Bordeaux INP, EPOC, UMR 5805, 33600 Pessac.

MORIN Soizic, soizic.morin@inrae.fr, INRAE, UR EABX, 50 avenue de Verdun, Gazinet, 33612 Cestas Cedex.

OUÉDRAOGO Frédéric, frederic.ouedraogo@inrae.fr, INRAE, Bordeaux Sciences Agro, UMR ISPA, 33140 Villenave-d'Ornon.

PIERDET Manon, manon.pierdet@u-bordeaux.fr, INRAE, Bordeaux Sciences Agro, UMR ISPA, 33140 Villenave-d'Ornon ; université de Bordeaux, CNRS, Bordeaux INP, EPOC, UMR 5805, 33600 Pessac.

STACHOWSKI-HABERKORN Sabine, Sabine.Stachowski.Haberkorn@ifremer.fr, IFREMER, PHYTOX, Laboratoire PHYSALG, 44311 Nantes Cedex 03.

WEEKS-SANTOS Shannon, shannon.weeks-santos@u-bordeaux.fr, université de Bordeaux, CNRS, Bordeaux INP, EPOC, UMR 5805, 33600 Pessac.

Responsable éditoriale : Véronique Véto
Coordinatrice éditoriale : Anne-Lise Prodel
Éditrice : Anne Guirado
Mise en pages et figures des chapitres 2 à 6 : EliLoCom
Figures du chapitre 1 : Anaïs Naïmi
Achevé d'imprimer en janvier 2023
par ISIPrint en France (Parc des Damiers - 139 rue Rateau - 93120 La Courneuve)
N° d'impression :
Dépôt légal : janvier 2023

La protection phytosanitaire des vignobles soulève de nombreuses questions intéressant les viticulteurs. Quels maladies et ravageurs attaquent les vignes dans les différents pays producteurs ? Quelles pratiques en matière de conduite des vignobles permettent d'assurer la protection phytosanitaire ? Quelles sont les conséquences de l'usage des pesticides organiques et inorganiques en termes de risques environnementaux sur les écosystèmes terrestres et aquatiques ? Quelles sont les réactions des espèces biologiques aux impacts des pesticides ?

C'est pour répondre au mieux à toutes ces questions que des chercheurs issus de diverses disciplines (agronomes, agroécologues, agroéconomistes, chimistes de l'environnement, hydrobiologistes, écologues, écotoxicologues) se sont associés pour apporter des explications scientifiques, étayées par leurs expériences sur un site d'étude commun.

Ces auteurs explorent également les stratégies d'évolution des systèmes viticoles pour diminuer drastiquement la pression phytosanitaire actuelle des pesticides sur les écosystèmes et le biote. Ils examinent enfin l'action des politiques publiques d'accompagnement de ces stratégies. Chaque chapitre est accompagné du témoignage d'un acteur socioprofessionnel, ou expert scientifique, afin d'établir une relation étroite entre les besoins sur le terrain et les recherches conduites.

Cet ouvrage s'adresse principalement aux gestionnaires de services agricoles et environnementaux, aux enseignants et étudiants, aux professionnels de terrain : viticulteurs et conseillers, techniciens de rivière… mais aussi à toute personne intéressée par la problématique des pesticides, plus particulièrement en viticulture.

Francis Macary est ingénieur agronome, docteur en sciences de l'environnement, ingénieur-chercheur en agroenvironnement au centre INRAE de Bordeaux et expert national du ministère en charge de l'Agriculture. Il évalue les performances environnementales et socio-économiques des systèmes agricoles et propose des scénarios d'évolution dans le cadre de la transition agroécologique. Il a coordonné de multiples projets de recherche, dont le projet PhytoCOTE en Bordelais.

Stéphane Le Foll a toujours été proche des questions agricoles : professeur d'économie en lycée agricole puis à l'université de Nantes, il devient député européen en charge de l'agriculture et du développement rural, et enfin ministre de l'Agriculture et de l'Agroalimentaire. Il promeut alors le projet national agroécologique lancé en 2012 en France, puis auprès d'instances internationales.

30 €

ISBN : 978-2-7592-3600-8

éditions Quæ

Éditions Cirad, Ifremer, INRAE
www.quae.com





ISSN : 1952-1251
Réf. : 02859